

# المضادات الحيوية ANTIBIOTICS

Actions, Origins , Resistance

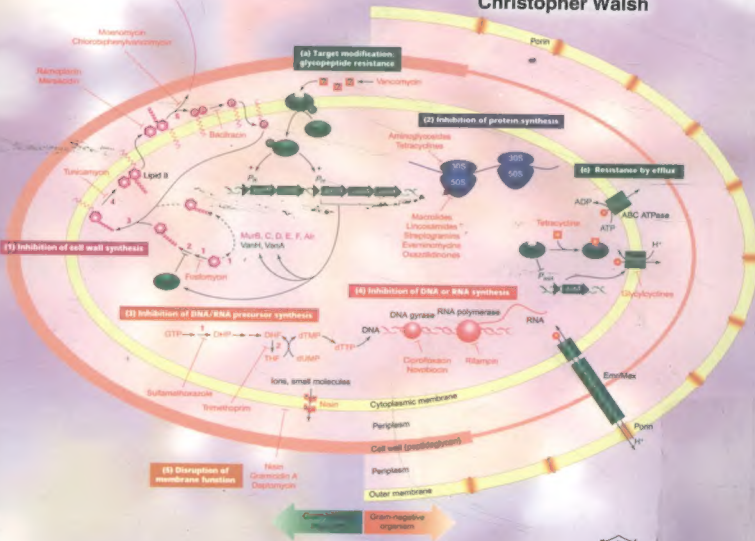
طرق العمل، المصادر، المقاومة

ترجمة

أ. د. حنان أحمد حبيب الله باباي

تأليف

كريستوفر والشد  
Christopher Walsh











# المضادات الحيوية

طرق العمل، المصادر، المقاومة

**ANTIBIOTICS**

Actions, Origins, Resistance

تأليف

كريستوفر والش

Christopher Walsh

كلية الطب جامعة هارفارد - بوسطن - مساتشوسيتس

ترجمة

أ.د. حنان أحمد حبيب الله باباي

استشارية الأحياء الطبية الدقيقة

مستشفى الملك خالد الجامعي - كلية الطب

جامعة الملك سعود

النشر العلمي والمطابع - جامعة الملك سعود

ص.ب. ٦٨٩٥٣ - الرياض ١١٥٣٧ - المملكة العربية السعودية



ج) جامعة الملك سعود، ١٤٣٣هـ - (٢٠١٢م)

هذه ترجمة عربية مصرح بها من مركز الترجمة بالجامعة لكتاب:

ANTIBIOTICS, ACTIONS, ORIGINS, RESISTANCE

By: Christopher Walsh

© 2003 ASM Press

فهرسة مكتبة الملك فهد الوطنية أثناء النشر

والش، كريستوفر

المضادات الحيوية: طرق العمل، المصادر، المقاومة. / كريستوفر والش؛ حنان أحمد حبيب باباي. - الرياض،

١٤٣٣هـ

٣٩٦ ص ٢٨×٢١ سم

ردمك: ٩٧٨-٩٩٦٠-٥٥-٩٣٨-٤

١- المضادات الحيوية ٢- الجراثيم أ. باباي، حنان أحمد حبيب (مترجم) ب. العنوان

١٤٣٣/٤٠

ديوي ٥٧٤، ١٩٢٤٦

رقم الإيداع: ١٤٣٣/٤٠

ردمك: ٩٧٨-٩٩٦٠-٥٥-٩٣٨-٤

حكمت هذا الكتاب لجنة متخصصة شكلها المجلس العلمي بالجامعة وقد وافق على نشره، بعد اطلاعه على تقارير

المحكمين وذلك في اجتماعه العشرون للعام الدراسي ١٤٣١/١٤٣٢هـ المعقود بتاريخ ٢٤/٧/١٤٣٢هـ الموافق

٢٦/٦/٢٠١١م

النشر العلمي والمطابع، ١٤٣٣هـ



## مقدمة المترجم

الحمد لله الذي جعل أول تنزيله الكريم قوله تعالى ﴿اقْرَأْ...﴾ (١) علماً بالعلم والتعلم، والصلاة والسلام على أفضل خلقه أجمعين محمد رسول الله الأمين وعلى آله وصحبه أجمعين. أما بعد فهذه ترجمة لكتاب "المضادات الحيوية، طرق العمل، مصادرها والمقاومة" التي تُوخي فيها الدقة في الترجمة لنقل كل ما رغب فيه المؤلف في نقله إلى قارئ الكتاب من الحقائق العلمية مهما كانت صغيرة.

ويعتبر هذا الكتاب مرجعاً مبسطاً يرجع إليه طلبة كليات الطب والصيدلة والكليات الصحية المهتمين بالمضادات الحيوية التي تستعمل في معالجة مختلف الأمراض المعدية التي تصيب الإنسان وطرق نشوء المقاومة لها. وللكتاب أيضاً أهمية لأعضاء هيئة التدريس والأطباء المختصين بمجال الصيدلة والأحياء الطبية الدقيقة حين الرجوع إلى المعلومات الكثيفة والمختصرة الخاصة بمجال المضادات الحيوية ولاسيما بعد الازدياد الهائل في نشوء وتعدد المقاومة للمضادات الحيوية.

ولقد اعتمدنا بعد الله سبحانه وتعالى في ترجمة المفردات العلمية على المعجم الطبي الموحد الصادر من منظمة الصحة العالمية - المكتب الإقليمي لشرق المتوسط - الطبعة الرابعة.

وسنلاحظ كذلك بأن لبعض المفردات الإنجليزية أكثر من ترجمة. وفي هذه الحالة وضعنا كل ألفاظ الترجمات أولاً ثم بعد ذلك في سياق السرد رجعنا لأي من هذه الألفاظ، مثال ذلك كلمة (biosynthesis) والتي تترجم البناء الحيوي أو التكوين الحيوي، كلمة (pathways) وتترجم الطرق أو المسارات وكلمة (approach) تترجم أسلوب أو منهج. أما في الحالات النادرة والتي لم نجد فيها ترجمة المفردات العلمية والكيميائية أو اللغوية فقد رجعنا إلى المعاجم الأخرى مثل المورد لمثير البعلبكي الصادر عام ٢٠٠٢م أو قاموس جيتي الطبي لعام ٢٠٠٠م. أما بعض المفردات وأسماء الإنزيمات والعمليات الكيميائية التي لم نجد لها ترجمة نهائياً في هذه المصادر فقد تمت كتابتها كما هي باللغة العربية والإنجليزية مثال كلمة (lantibiotic) فكتبت كما هي بالعربية (لانتيبيوتيك).

وإننا نود أن يكون هذا الكتاب بداية محفزة لإثراء المكتبة العربية بكتب مترجمة لهذا العلم الأساسي في مجال التعليم الطبي والممارسة السريرية، إذ إن عدد الكتب المعربة في مجال المضادات الحيوية والمقاومة لها لا زالت محدودة. وفي الختام أود أن أتقدم بالشكر الجزيل والامتنان الخالص لزوجي الذي كان لدعمه الأثر البالغ في تحفيز وإنجاز هذا العمل، وكذلك والدتي وأبنائي لتهيئة البيئة المساعدة أثناء القيام بالعمل، وإلى كل من قام بتقديم النصح والمشورة الفنية.

ومن الله أرجو دوام التوفيق والسداد.

المترجمة

## مقدمة المؤلف

## PREFACE

لقد تطور هذا الكتاب نتيجة لأربعة اهتمامات متقاربة ومستمرة لفريقي البحثي: المثبطات الإنزيمية، وطرق التكوين الحيوي لجدار الخلية البكتيري، وآلية عمل المضادات الحيوية، وتطوير آليات المقاومة والتكوين الحيوي للبوليكتيد، ومنتجات البيبتيد الطبيعية غير الريبوسومية (polyketide and nonribosomal peptide natural products). الافتراض الرئيسي للمنهجية المتبعة هو القدرة على فهم وتصنيف طريقة عمل المضاد الحيوي تاريخياً ومستقبلياً بواسطة تحليل كيفية التدخل الانتقائي لهذه الجزيئات الصغيرة في عملية واحدة أو أكثر من العملية المركزية لبقاء الخلايا البكتيرية. وغالبية التركيز في هذا الكتاب على المنتجات الطبيعية ذات النشاط كالمضاد الحيوي التي تنتجها المكروبات لتعمل كأسلحة كيميائية على البكتيريا المجاورة، وفُحصت كذلك المواد الكيميائية المصنعة ذات النشاط كالمضادات الحيوية. توجد تقارير عن الآلاف من الجزيئات ذات النشاط كالمضاد الحيوي ولكن القليل فقط من الأصناف التركيبية لها تأثير على الأمراض المعدية البشرية. ويركز هذا الكتاب على هذه الأصناف من المضادات الحيوية.

إن هذا الكتاب لا يُعنى بأن يكون موسوعياً، ولا كتاب معلومات صيدلانية، ولا لدراسة العوامل الميكروبيولوجية المسببة للأمراض وكيفية معالجتها. توجد نصوص وكتب مرجعية تهتم بالجوانب الخاصة بالعوامل المضادة للمكروبات. تعمل الأصناف الرئيسة الحالية من المضادات الحيوية على مجموعة أهداف فرعية: التكوين الحيوي لجدار الخلية البكتيري، تكوين البروتين البكتيري، وتكرار وإصلاح دنا (DNA)، التكوين الحيوي للثيمينين بواسطة مسار الفوليت المعتمد على الإنزيم المساعد. ويفحص الباب الأول من الكتاب كيفية عرقلة المضادات الحيوية للبروتينات المعينة التي تعمل في هذه العمليات البكتيرية الأساسية وكيف يساعد التركيب الجزيئي للأدوية صغيرة - الجزيئات على نشاطها المضاد الحيوي.

يهتم الباب الثاني للكتاب بتطور المقاومة البكتيرية للمضادات الحيوية، بدءاً بالمنطق الجزيئي بأن المكروبات المنتجة للمضادات الحيوية تستعمل طرق معينة للحماية الذاتية. الطرق الثلاث الرئيسة للمقاومة في منتجات

المضادات الحيوية هي تدمير المضادات الحيوية، الإخراج النشاط للمضادات الحيوية بواسطة مضخات - خلال الأغشية، وتعديل تراكيب الهدف مما يؤدي إلى عدم الاستجابة للمضادات الحيوية. هذه الطرق تعتبر آليات رئيسة للمقاومة في البكتيريا المسببة للأمراض.

ويهتم الباب الثالث من النص بالنطق الجزئي للتكوين الحيوي، بدءاً بالشبكات المنظمة التي تتحكم في نسخة الجين للاستقلاب الثانوي في المتسللات (streptomycetes)، التي تنتج المضادات الحيوية. تُصنع مضادات البوليكتيد والمضادات الحيوية غير الريبوسومية على "خطوط تجميع متعددة الجزئات" مشابهة لماكيناة الإنزيم المصنع للأحماض الدهنية (acid synthase machinery fatty). وتُمكن إستراتيجية خط التجميع المثالية من التباين الواسع في تركيب هذه الأصناف من العوامل المضادة للبكتيريا وكذلك توفر فرصة التكوين الحيوي الاندماجي الموجة.

يبحث الباب الأخير من الكتاب آفاق توسيع قاعدة الأهداف البكتيرية وكذلك المضادات الحيوية الجديدة المرجح بروزها إلى الوجود. لقد نقل تسلسل المجين البكتيري البحوث الخاصة بالمضادات البكتيرية من عصر الفقر - في الهدف إلى عصر الغنى - في الهدف. ومن المحتمل أن تظهر مضادات حيوية جديدة من كل من الجهود الكيميائية الاصطناعية، وربما عن طريق الجهود الكيميائية الاندماجية، وأيضاً من المنتجات الطبيعية بواسطة مغايرات التكوين الحيوي الاندماجية.

أنا عمتن إلى العديد من أعضاء فريقتي البحثي، وبالأخص خلال السنوات الخمس الماضية، للكثير من المناقشات والأفكار الخاصة بعمل المضادات الحيوية، والتكوين الحيوي المقاومة.

أشكر جون تروجر (John Trauger) لتصميم وإنجاز العمل الفني على الأهداف في الخلايا البكتيرية التي أدت إلى فن غلاف الكتاب والرسومات في مقدمة الفصول، وأشكر غاري مارشال (Gary Marshall)، وريمووند تشين (Raymond Chen)، وهيتين باتيل (Hiten Patel)، وستيف برونر (Steve Bruner)، ومايك بوركرات (Mike Burkart)، وسوزان كلوجستون (Susan Clugston)، وراثول كوهلي (Rahul Kohli)، وهيذر لوسي (Heather Losey)، ولوسونج لو (Lusong Luo) لإسهاماتهم العديدة في إنشاء الأعمال الفنية وتصميمها وتنفيذها وكذلك لتصحيح العديد من التناقضات والأخطاء طوال فترة العمل. أقر مساعدة ومساهمة تانيا شنيدر (Tanya Schneider)، وسارة أوكونور (Sarah O'Connor)، وبالأخص لوسونج لو (Lusong Luo) على الجهود المبذولة لمتبسات الأدب. وأتوجه بالشكر الخاص إلى غاري مارشال للاجتهاد الهائل والاهتمام بالنص وخاصة الجزء الأكبر من الأعمال الفنية النهائية للكتاب.

كريستوفر والش

يناير ٢٠٠٣

## المحتويات

## Contents

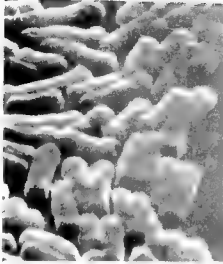
.....	مقدمة المترجم	هـ
.....	مقدمة المؤلف	ز
.....	الباب الأول: مقدمة إلى المضادات الحيوية	١
.....	الفصل الأول: المضادات الحيوية: المفاهيم الأولية	٣
.....	الباب الثاني: الأهداف المُثَبِّتة والأصناف الرئيسة من المضادات الحيوية	١١
.....	الفصل الثاني: مقدمة للأصناف الرئيسة للمضادات الحيوية وطرق العمل	١٣
.....	الفصل الثالث: المضادات الحيوية التي تعمل على البناء الحيوي لجدار الخلية	٢٣
.....	الفصل الرابع: المضادات الحيوية التي تعرقل البناء الحيوي البكتيري للبروتين	٥٥
.....	الفصل الخامس: المضادات الحيوية التي تعرقل تكرار وترميم الحمض النووي دنا: الكوينولونات	٧٥
.....	الفصل السادس: أهداف أخرى للأدوية المضادة للبكتيريا	٨٣
.....	الباب الثالث: المقاومة للمضاد الحيوي	٩٥
.....	الفصل السابع: المناعة الطبيعية والمنتجة مقابل المقاومة المكتسبة	٩٧
.....	الفصل الثامن: التدمير الإنزيمي أو تعديل المضاد الحيوي بواسطة البكتيريا المقاومة	١١٥
.....	الفصل التاسع: مقاومة المضادات الحيوية بواسطة مضخات التدفق	١٣٥
.....	الفصل العاشر: مقاومة المضاد الحيوي بواسطة تغيير أو تعديل هدف المضاد الحيوي	١٥٣
.....	الباب الرابع: البناء الحيوي للمضاد الحيوي	١٦٧
.....	الفصل الحادي عشر: تنظيم البناء الحيوي للمضاد الحيوي في الكائنات المنتجة	١٦٩
.....	الفصل الثاني عشر: البناء الحيوي لمضادات بوليكتيد (متعدد الكتييد) الحيوية: مبحث إنزيمات خط- التجميع	١٨٧
.....	الفصل الثالث عشر: خطوط التجميع الإنزيمية لمضادات الببتيد الحيوية غير الريبوسومية	٢٠٩
.....	الفصل الرابع عشر: البناء الحيوي لأصناف المضادات الحيوية الأخرى	٢٣٥

الباب الخامس: الإستراتيجيات الجديدة لإيجاد مضادات حيوية جديدة وإطالة عمرها الزمني.....	٢٤٩
الفصل الخامس عشر: نظرات جديدة على الأهداف.....	٢٥١
الفصل السادس عشر: الجزئيات الجديدة.....	٢٩١
الفصل السابع عشر: السياقات والتحديات لاستعمال المضادات الحيوية الجديدة.....	٣٠٥
المراجع.....	٣١٩
ثبت المصطلحات.....	٣٥١
أولاً: عربي - إنجليزي.....	٣٥١
ثانياً: إنجليزي - عربي.....	٣٦٥
كشاف الموضوعات.....	٣٧٩



## مقدمة إلى المضادات الحيوية INTRODUCTION TO ANTIBIOTICS

في هذا الباب التمهيدي حُدِّدَ مجال وهدف الكتاب، مع التركيز على المضادات الحيوية من المصادر الطبيعية والاصطناعية التي لها دور كبير في معالجة الأمراض البكتيرية التي تصيب الإنسان. أُوضِحت مصادر المضادات الحيوية الطبيعية جنباً إلى جنب مع إستراتيجيات الوقاية الذاتية في الكائنات المُنتجة وتطوُّر المقاومة في البكتيريا التي سبق وكانت حساسة. إن التطوُّر المحتوم للبكتيريا التي تعرّضت للمضادات الحيوية لتصبح مقاومة يضمن الحاجة لدورات مستمرة من الاكتشاف وتطوير مضادات حيوية جديدة.



أثر مضادات البيتاكتام ( $\beta$ -lactam) الحيوية على الخلايا البكتيرية (A) خلايا الاشريكية القولونية (*Escherichia coli*) العصوية الشكل غير المعالجة، (B-D) الخلايا بعد المعالجة بمضادات البيتاكتام الحيوية، تُظهر حطام متحلل، آفات جدار وسطية، والكورات (بكتيريا عديمة الغلاف) (spheroplast). (الأشكال أ-ج مأخوذة بالإذن من جرينوود و أوجريدي (Greenwood and O'Grady, 1971) والشكل د- من جرينوود و أوجريدي (1969).

## المضادات الحيوية: المفاهيم الأولية ANTIBIOTICS: INITIAL CONCEPTS

### ما هي المضادات الحيوية ومن أين أتت؟

المضادات الحيوية هي الجزيئات التي توقف نمو المكروبات سواء أكانت بكتيريا أم فطريات وتقتلها مباشرة. كما هو موضح في الشكل (١.١)، المضادات الحيوية التي تمنع البكتيريا من النمو هي كاشحة للبكتيريا (bacteriostatic)، مثل عقار الكلورامفينيكول (chloramphenicol). المضادات الحيوية التي تسبب موت الخلية البكتيرية هي مبيدة للبكتيريا (bactericidal)، تقلل العدد البكتيري، كما هو الحال في البنسلين. وقد تُظهر بعض المضادات الحيوية نشاط مبيط للبكتيريا في بعض الظروف ونشاط مبيد للبكتيريا في أخرى حيث يحدث تدمير كافٍ لواحد أو أكثر من تراكيب أو سبل الخلية مما يحفز ناتج استجابة مبيدة للبكتيريا.

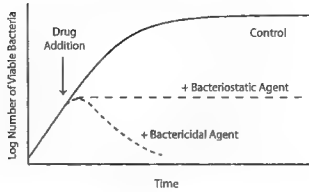
المضادات الحيوية هي عوامل "ضد الحياة" *against life* قد تكون منتجات طبيعية أو من صنع الإنسان من المواد الكيميائية الاصطناعية، صُممت لعرقلة بعض العمليات المهمة بشكل انتقائي في الخلايا الجرثومية. معظم المضادات الحيوية التي أُدخلت للاستعمال السريري للإنسان لعلاج المرض المعدي في السنوات الستين الماضية كانت منتجات طبيعية، وأُنتجت بواسطة كائن دقيق واحد في موطن معين وتحت ظروف بيئية معينة وهي تؤثر على المكروبات المجاورة، إما بتنظيم نموها أو بداية القضاء عليها. تُنتج منتجات المضادات الحيوية الطبيعية بواسطة كل من البكتيريا والفطريات، والمجموعة الرئيسة من البكتيريا المنتجة للمضادات الحيوية هي الفطريات الشعية (Actinomycetes). كما أن الأدوية المضادة للجراثيم يمكن أن تكون مضادة للبكتيريا أو مضادة للفطريات. ولا توجد عوامل علاجية مضادة للبكتيريا ومضادة للفطريات على حد سواء، وذلك بسبب اختلاف الأهداف الجزيئية والخلوية والقضايا المتعلقة باختراق الخلية الجرثومية. وسيكون تركيز هذا الكتاب على العوامل المضادة للبكتيريا فقط، ويرجع ذلك جزئياً إلى العدد الكبير وتنوع الأدوية العلاجية المضادة للبكتيريا، وزيادة معدل

العداوى (الإثانات) البكتيرية المسببة للأمراض، وأخيراً عدم وجود مساحة لتغطية جميع المواضيع على نحو كاف في مجلد واحد.

في حين أن معظم الأصناف العلاجية من المضادات الحيوية المستعملة هي منتجات طبيعية أو مشتقات شبه اصطناعية، كما سنلاحظ في الفصل الثاني، إلا أن هناك ثلاثة أصناف من المضادات الحيوية الاصطناعية في الاستعمال السريري هي من صنع الإنسان. أدخلت عقاقير السلفا (sulfa) في الثلاثينيات، وعقاقير كوينولونات (quinolones) في الستينيات وتمت إجازة أوكسازوليدينون (oxazolidinone) في الولايات المتحدة الأمريكية في عام ٢٠٠٠. وسندرس اكتشافها وتطويرها بالتوازي مع المضادات الحيوية الطبيعية. إن الغرض من مصدر المضادات الحيوية الاصطناعية واضح: فهي تنبع من برامج كيمياء دوائية / مرض عدواني في مختبرات البحوث في مجال صناعة الأدوية.

الوجود والتطور السريري لكل من منتجات المضادات الحيوية الطبيعية والاصطناعية يعكس التفرع في برامج اكتشاف المضادات الحيوية في القرن العشرين. فمن جانب واحد كان اتجاه الكيمياء الدوائية التي تتبع نهج "الرصاصة السحرية" الكلاسيكي وهو يهدف لصنع مركبات نقية ذات خواص محدّدة وفائدة علاجية. هذا النهج قد حقق انتصاراً من قبل بإدخال عقاقير السلفا كمضادات للبكتيريا، والتي ما زالت تستعمل بعد ست عقود (أميز، 2001). ومن مسار منفصل جاء عزل البنسلين، المنتج الطبيعي، بوصفه عاملاً فعالاً مضاداً للبكتيريا. وأدى ذلك إلى الاعتراف بأن المكروبات تشن حرباً ضد بعضها بعضاً بالمضادات الحيوية، لتبدأ من ذلك عقود من المسح المكثف للمزارع الجرثومية للبحث عن أصناف جديدة من المضادات الحيوية والتي أدت إلى الاكتشاف والتطور السريري لأنواع البنسلين (penicillins)، والكيافوسبورين (cephalosporins)، التتراسيكلين (tetracyclins)، سترتوميسين (streptomycins) والأجيال الأخيرة من الامينوغليكوسيدات (aminoglycosides)، كلورامفينيكول (chloramphenicol)، ريفاميسينات (rifamycins)، غليكوبيبتيدات (glycopeptides)، ومن مضادات الميكروبيد (macrolide) الحيوية، صنف الإريثروميسين (erythromycin).

أدى اكتشاف النموذجين من المضادات الحيوية، وهما السلفا صناعياً والبنسلين طبيعياً إلى التقارب مع إدخال الأجيال الأخيرة من المتغيرات الشبه اصطناعية من كل من مضادات البيتا لكتام ( $\beta$ -lactam) وميكروبيد، حيث استخدمت الكيمياء في هندسة بعض الصفات المنشودة، مثل التوافر الحيوي (bioavailability)، الثبات (stability)، النطاق (المدى) الأوسع من النشاط (broader spectrum of activity)، أو الفعالية ضد المكروبات المقاومة.



الشكل (١، ٩). آثار المضادات الحيوية المثبطة للبكتيريا مقابل المضادات الحيوية المبيدة للبكتيريا على المزرعة البكتيرية ذات النمو اللوغاريتمي (logarithmically). (بالإذن من شولار و برات (Scholar and Pratt) 2000).

### كشفت الأصناف المختلفة من المضادات الحيوية عن أهداف واضحة في البكتيريا

إن توفر التركيب المختلفة من أصناف المضادات الحيوية الاصطناعية والطبيعية وشبه الاصطناعية سمح بتحديد الأهداف المثبطة والمبيدة للبكتيريا (انظر جيل 1981، Gale)، رسل وشبرا (Russell and Chopra, 1996)، كما سنتناول في الفصل التالي مزيداً من التفاصيل. وعندما تم الكشف عن جزيء مضاد حيوي جديد في مزرعة أو مرق (broth) ميكروبي أو بالمسح في برنامج الكيمياء الدوائية الاصطناعية، كان من الممكن مقارنته ضد المضادات الحيوية المعيارية ذات آليات العمل المعروفة. وتقترح الآلية الجديدة الهدف الجديد الذي يمكن أن يُرسم من خلال التحليل الكيميائي الحيوي. ومن جانب آخر فإن معرفة الأهداف وآليات العمل للأصناف الرئيسة للأدوية المضادة للمكروبات قد وفّر مجموعة من الفحوص التي من شأنها السماح بتصنيف المضادات الميكروبية المكتشفة حديثاً من جانب آليات العمل، مثال: ضد البناء (التكوين) الحيوي لجدار الخلية أو كمثبطات لبناء البروتين الحيوي.

إن تقييم جزيئات جديدة من المضادات البكتيرية عادة ما يتبع إجراءات رئيسة. أولاً، تُختبر المركبات الجديدة ضد فريق من السلالات البكتيرية، وكثير منها هي من العوامل البكتيرية المسببة للأمراض الناجمة من العزل السريري، وامتلك العديد من هذه مقاومة مسبقة للأجيال السابقة من المضادات الحيوية. وإذا أظهر المضاد الحيوي الجديد المرشح فعالية كافية ضد السلالات الموسّمة فإنه يمكن تقييم الجزئي في الحيوانات الملقحة للحصول على مستويات عالية من العدوى بسلالات محددة من البكتيريا في أنسجة محددة (مثل: عداوى الدم البكتيرية، أو تجرثم الدم) لمعرفة ما إذا كان المرشح هو جزيء وقائي و/أو علاجي. وبعد ذلك يمكن مقارنة المضاد الحيوي الجديد ضد المضادات الحيوية المعيارية المستخدمة ضد العدوى البكتيرية، مع كل من السلالات من المُعرضات الحساسة والمقاومة للمضاد الحيوي. وإذا تم نجاح الجزئي الجديد في هذه الاختبارات، فمن الممكن أن يكون في طريقه كمرشح للتطوير.

## متى تصنع المكروبات المضادات الحيوية وكيف تُدبر الحماية الذاتية؟

المنتجات الطبيعية ذات نشاط المضاد الحيوي تكاد تكون جميعها منتجات من مسارات الأيض (الاستقلاب) الثانوية، وهي مسارات من الممكن الاستغناء عنها تحت العديد من ظروف النمو وهي منتجات ثانوية للمسارات الأولية المطلوبة للبقاء على قيد الحياة في عندما تكون الكائنات الدقيقة في مراحل النمو النشط. ولكن عندما تدخل المكروبات التي تنتج المضادات الحيوية المرحلة المستقرة (stationary phase) وتواجه المنافسة على المكان و/أو الغذاء لكائنات أخرى، فإنها تُشغل الجينات التي تُشفر جزيء المضاد الحيوي وتستخدمه في تنظيم النمو، أو ربما أو بنشاط أكثر تشن حرباً كيميائية على جيرانها. ثم تكون لمنتجي المضادات الحيوية الأفضلية الانتقائية (selective advantage) من أجل النمو بما في ذلك الحصول على المواد الغذائية من جيرانها المحتضرين، وسيكون لها الضغط الإنتقائي (selective pressure) للحفاظ على السبل (الطرق) المنتجة للمضاد الحيوي وتُشغلها في أوقات الحاجة. وسوف نفحص الإشارات وآليات الاتصال بين استشعار النصاب (quorum sensing) وداخل البكتيريا (المسارات التنظيمية ذات - الشقين) (two-component regulatory pathways) المعروفة بدورها في تشغيل مسارات المضادات الحيوية.

تحتاج البكتيريا والفطريات التي تصنع المضادات الحيوية إلى الحماية الذاتية أو آليات المناعة الذاتية من الأسلحة الكيميائية القاتلة التي تنتجها فهي تستخدم مجموعة متنوعة من الإستراتيجيات، كما سنلاحظ بالتفصيل في الفصل السابع. والعامل المشترك بينها هو تصدير النُظُم بالتبادل للمضاد الحيوي الناضج من الخلية المنتجة إلى الوسط الخارجي لإبقاء التراكيز منخفضة في الكائنات المنتجة. بعض المضادات الحيوية مثل الامينوغليكوسيد، ستربتوميسين و ميكروليد أولياندوميسين (oleandomycin) يتم تصديرها رغم أنها لا يزالان غير نشطين وعلى بعد خطوات عديدة من النضج الإنزيمي القاتل، الذي يحدث خارج الخلية. ويغير منتجي المضادات الحيوية الآخرين تركيب جدران الخلية الخاص بهم، كما يعمل عنصر ببتيديل ترانسفيراز (إنزيم ناقل الببتيديل) (peptidyltransferase) المستخدم في آلية تكوين البروتين على الريبوسومات البكتيرية، أو يحدث تطفرات لتقليل الحساسية التركيبية في إنزيمات تكرار الحمض النووي دنا (DNA) لتوفير الحماية ضد التدمير - الذاتي. وهناك جدل بخصوص أن آليات الحماية الذاتية قد تكون ظهرت بالمشاركة مع سبل التكوين الحيوي للمضاد الحيوي، وأن الحماية الذاتية وجينات التكوين الحيوي للمضاد الحيوي تكون في كثير من الأحيان مجتمعة ومتظمة سوياً.

## كيف تتطور المقاومة؟

في مئات الملايين من السنوات التي كانت فيها بعض فروع البكتيريا والفطريات تنتج المضادات الحيوية لتعمل على جيرانها، كان الضغط التطوري يعمل في البكتيريا التي تحت الهجوم لوضع آليات المقاومة للبقاء على قيد الحياة. وفي السبعين عاماً من عصر المضادات الحيوية المستخدمة في علاج الإنسان من الأمراض المعدية، تطورت

البكتيريا بشكل مناظر بدون كلل مع اكتسابها مقاومة سريرية مؤثرة للصف تلو الآخر من المضادات الحيوية (أمير Amyes, 2001، ليفي 1998). ساعد على تطوّر الطفرات (mutants) وجود العدد الكبير من الخلايا البكتيرية في السكان مع الأزمنة القصيرة للتولّد (short generation times). قد تنتج آلية تكرار الحمض النووي البكتيري دنا (DNA) خطأ واحد في  $10^7$ ، في تكرار الجين  $3 \times 10^6$  bp الذي يحتوي على 3000 جين، أي خطأ في كل جيل. وإذا كان هناك  $10^{11}$  بكتيريا في السكان مثال ذلك في المريض الذي تمت معالجته من العدوى البكتيرية الجهازية المتولدة من الدم، فقد يكون هناك 1000 طفرات متغيرة وإذا كانت الطفرات موزعة بشكل عشوائي خلال الجين البكتيري فإن 1000 جين، واحد من ثلاثة سيكون له طفرة واحدة. وإذا منح واحد من هذه الميزة الانتقائية من أجل البقاء، على سبيل المثال في وجود أحد المضادات الحيوية، فإنه سيتم انتقاء البكتيريا المقاومة لتنمو وتأخذ طريقها في الاستتباب في حين يموت جيرانها. ويمكن أن يحدث ذلك في غضون أيام في المرضى الذين يعالجون بالمضادات الحيوية. ومن هذا المنطق فإنه من المحتمل جداً أن تتطوّر المقاومة في الجمهرة البكتيرية وكلما اتسع نطاق استعمال المضادات الحيوية، كان احتمال المقاومة أكثر ما لم يكن هناك حاجة لطفرة متعددة. كما هو ملاحظ في الجدول (١،١)، فمعدّل إدخال مضادات السلفوناميد الحيوية في الثلاثينيات، ومن خلال الكيفالوسبورين والبنسلين الشبه اصطناعي في الستينيات، تبع ذلك في وقت لاحق من عقد إلى ثلاثة عقود ظهور المقاومة السريعة الخطيرة للمضادات الحيوية. والناس في الولايات المتحدة يملكون حوالي 80 مليون وصفة للمضادات الحيوية سنوياً، والتي تشمل حوالي 12500 طن من الأدوية في السنة. وفي ما يقارب الخمسين عاماً من عصر المضادات الحيوية، تم إنتاج وتوزيع ما يقارب خمسين مليون طن من المضادات الحيوية، ويشمل ذلك للاستخدام الحيواني والزراعي، مما يوحى إلى وجود مستودع مهم لنشوء المقاومة البكتيرية.

المتطلب الثاني وراء احتمال الانتقاء الإحصائي للمقاومة البكتيرية للمضادات الحيوية هو توافر الآليات. وسنلاحظ في المنتجات الطبيعية من المضادات الحيوية، أن معظم آليات المقاومة المختلفة في البكتيرية الممرضة التي تسبب الأمراض في الإنسان يبدو أنها قد اكتسبت من الأحداث وآليات المقاومة من البكتيريا - المنتجة للمضادات الحيوية. وقد تم اكتساب أداة الحماية الذاتية لمنتجات المضادات الحيوية من العوامل المسببة للأمراض تحت ضغط أن تكيف أو أن تموت. وإحدى الميزات الكامنة للمضادات البكتيرية الاصطناعية هو أنها لم تكن بالفعل في المحيط الحيوي وهكذا قد لا يكون هناك مستودعات من آليات المقاومة الداخلية التي يمكن اكتسابها بسرعة بواسطة الممرضات المستهدفة. ومع ذلك، فإن الإنزيمات الموجودة قد خضعت لجولات من الطفرة التي تؤدي إلى مقاومة السلفوناميد والترايميثوبريم (trimethoprim) (انظر الفصل السادس). وعلى سبيل المثال، تعتبر آليات التدفق (efflux mechanisms) مهمة في إبطال أدوية الكوينولون (quinolone) المضادة للبكتيريا.

الجدول (١، ١). ظهور المقاومة للمضادات الحيوية.

المضاد الحيوي	سنة الظهور	ملاحظة المقاومة
Sulfonamides سلفوناميد	١٩٣٥ (في الثلاثينيات)	١٩٤٥ (في الأربعينيات)
Penicillin البنسيلين	١٩٤٣	١٩٤٦
streptomycin سترپتوميسين	١٩٤٣	١٩٥٩
Chloramphenicol كلورامفينيكول	١٩٤٧	١٩٥٩
Tetracycline تتراسيكلين	١٩٤٨	١٩٥٣
Erythromycin إريثروميسين	١٩٥٢	١٩٨٨
Vancomycin فانكوميسين	١٩٥٦	١٩٨٨
Methicillin ميثيسيلين	١٩٦٠	١٩٦١
Ampicillin أمپيسيلين	١٩٦١	١٩٧٣
Cephalosporins كيفالوسبورين	١٩٦٥ (في الستينيات)	١٩٦٥ (أواخر الستينيات)

من بالومبي (Palumbi) (2001)، مع الإذن.

### استمرار الحاجة إلى المضادات الحيوية الجديدة: من أين ستأتي؟

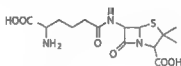
إن تجربة الأمراض المعدية منتصف القرن الماضي هي أن إدخال صنف جديد من المضادات الحيوية، إذا كانت فعالة وآمنة، سيؤدي إلى الاستخدام الواسع النطاق ومن ثم إلى تطور المقاومة للأسباب الجزئية المذكورة أعلاه (شُرحت في الفصل السابع عشر). وللتغلب على مثل هذه المقاومة، استخدم علماء الكيمياء العلاجيون المُمرضات المقاومة كأهداف لاختبار التعديلات على المضادات الحيوية الحالية لتوسيع نطاق عمل الجزيئات التي استعادت الفعالية ضد الميكروبات المقاومة. ومن بين مضادات بيتالكتام الحيوية، نتجت تكرارات متعددة لتراكيب البنسيلين وإلى أربعة أجيال من الكيفالوسبورين، تمثل كل منها تعديلات كيميائية أُدخلت إما لتوسيع نطاق عملها أو للتغلب على انتشار المقاومة. من بين مضادات ميكروبيدات الحيوية، أُنتج الإريثروميسين بالعوامل واسعة المدى، أزيتروميسين وكلازيتروميسين وكتولايدات (azithromycin and clarithromycin and the ketolides)، والعوامل واسعة المدى التي دخلت للسوق حديثاً. هذه الأمثلة هي المنتجات من ترقيع التراكيب الطبيعية للمضادات الحيوية للتغيير التدريجي.

والطريق الثاني لعرض التحدي (بالومبي Palumbi, 2001) هو أن ننظر لسبل المضادات الحيوية التي تستخدم لعلاج العدوى الميكروبية العنقودية (staphylococcal infections) على مدى نصف القرن الماضي (الشكل ١.٢). فقد كان للبنسيلين فعالية عامة منذ إدخاله عام ١٩٤٦. وبحلول عام ١٩٦١ أُدخل الأميسيلين (ampicillin) الشبه اصطناعي للتعامل مع النشاط الإنزيمي للبيتالكتاماز (β-lactamase) في العدوى الميكروبية العنقودية. وبالنسبة للمكورات العنقودية المقاومة للمثيسيلين (methicillin resistant Staphylococcus aureus) (إم آر إس إيه MRSA) كان الفانكوميسين

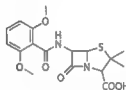


(vancomycin) هو الدواء المختار في عام ١٩٨٦. وتستمر القصة، حيث أُدخل في عام ١٩٩٩ أوكسازوليدونون لينيزوليد (زيفوكس) (oxazolidinone linezolid (zyvox)، وأظهر مؤشرات نشاط ضد الميكروبات العنقودية المتعددة المقاومة. توجد وسيلتان من الوسائل المعاصرة الموازية لتحديد الجزيئات الجديدة النشطة ضد البكتيريا المقاومة والمسببة للأمراض وهي الاستمرار في البحث عن المضادات الحيوية في المرق الجرثومي وتنمية مكتبات اصطناعية كبيرة من الطرق الكيميائية الاندماجية وبعد ستة عقود من الفحص المكثف قد يكون هناك تناقص عائد للفحص التقليدي ولكن من الممكن تحسين ذلك ببذل المزيد من الجهود لإيجاد جينات جديدة للتكوين الحيوي للمضادات الحيوية من الجزء الأكبر من الميكروبات التي لم يتم زرعها وطرق للتكوين الحيوي الاندماجي للمضادات الحيوية للحصول على تراكيب جديدة من المضادات الحيوية الطبيعية. وكلا الطريقتين بنيتا على الملاحظات أن العديد من الجينات التي ترمز (تشفّر) سبل الاستقلاب للمضادات الحيوية تتجمع سوياً، وبذلك يمكن استنساخها ومعالجتها كوحيدات متجاورة من الحمض النووي دنا (DNA). وما تزال المكتبات الكيميائية الاصطناعية في التوسع مع الزيادة في المجموعة الوظيفية والتعقيد المعماري، وكما أنه من الممكن أن تصبح المصدر الرئيسي لاكتشاف منصات هيكلية جديدة التي يمكن أن تكون الأمثل.

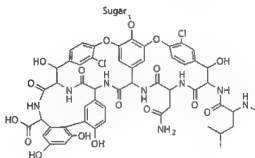
Penicillin 1946



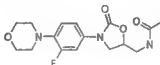
Methicillin 1961



Vancomycin 1986



Zyvox 1999



الشكل (١،٢). التقدم في المضادات الحيوية المطلوبة للكفاءة في العدوى الميكروبية العنقودية (مقبسة بالإذن من بالومي (Patumbi, 2001).

في الباب التالي سوف نراجع الأهداف الرئيسة المثبتة في البكتيريا التي تعمل عليها الأصناف الرئيسة من المضادات الحيوية. وفي القسم الأخير من الكتاب سوف نحدد الجهود المبذولة لإيجاد والتحقق من الأهداف الجديدة من المضادات الحيوية الناجمة من توافر المجينات (genomes) كاملة التسلسل من ما يقرب من خمسة عشر من الأنواع البكتيرية.

### سبل وتنظيم هذا الكتاب

يعالج هذا الكتاب المسائل المثارة في الأقسام المذكورة أعلاه. وهو يبحث مصادر المضادات الحيوية التي تعتبر النتائج الرئيسة في معالجة الأمراض المعدية التي تصيب الإنسان، وآليات عمل هذه المضادات الحيوية، وطرق تطوُّر المقاومة الرئيسة، وأخيرا الاستراتيجيات للدورات الجديدة للمضادات الحيوية والمستبدلة.

بعد هذا الفصل التمهيدي، يحدد الباب الثاني (الفصول من الثاني إلى السادس) الأصناف الرئيسة من المضادات الحيوية والأهداف القابلة المثبتة في البكتيريا، وبالأخص البناء الحيوي لجدار الخلية، البناء الحيوي للبروتين، تكرار وإصلاح الحمض النووي دنا، والبناء الحيوي للفوليت والتكوين الحيوي الجيني (biogenesis) للحمض النووي رنا.

يتناول الباب الثالث (الفصول من السابع إلى العاشر) آليات مقاومة المضادات الحيوية. ويبدأ هذا القسم بتحليل آليات الحماية الذاتية للسلاسل المنتجة للمضادات الحيوية ومن ثم فحص استراتيجيات المقاومة الثلاث - وتحطيم المضاد الحيوي، عمل مضخات التدفق (efflux pumps)، وتعديل تراكيب أهداف المضادات الحيوية.

يتناول الباب الرابع (الفصول من الحادي عشر إلى الرابع عشر) المنطق الجزئي للتكوين الحيوي للمضادات الحيوية. ويشرح الفصل الأول من هذا الباب كل من جزئيات قانون الاستشعار الذي يعمل بين البكتيريا وإثنين من نظم العناصر التنظيمية التي تنقل المعلومات الواردة من الخارج للتنشيط الانتقائي للجنين لتحويل مسارات البناء الحيوي للمضاد الحيوي استجابة للإشارات البيئية. ومن ثم يُحدد منطق خط - التجميع (assembly-line logic) لإيجاد مضادات بوليكتيد الحيوية مثل التتراسيكلين والإريثروميسين ويُقارن مع منطق خط - التجميع الموازي لصنع مضادات الببتيد الحيوية غير الريبوسومية مثل البنسلين، الفانكوميسين والباستراسين (bacitracin). وتعتبر معرفة كيفية عمل خطوط التجميع تمهيدا لهندسة الاستقلاب للجزيئات الجديدة.

يتيح الباب الخامس (الفصول من الخامس عشر إلى السابع عشر) مناقشة ختامية للاستراتيجيات المعاصرة لإيجاد وإنتاج مضادات حيوية جديدة بواسطة كل من إعادة فحص الأهداف المحددة من قبل وبالجهد الجينية البكتيرية التي أقرت العديد من المنتجات الجينية مثل العوامل المضادة للبكتيريا ويتناول الفصل الأخير الحاجة إلى سياسات لتطويل العمر المفيد للمضادات الحيوية الحالية والجديدة.

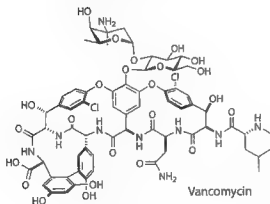
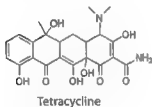
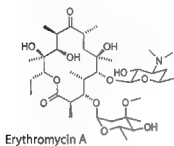
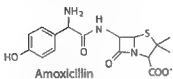
## الأهداف المُثبتة والأصناف الرئيسة من المضادات الحيوية

### VALIDATED TARGETS AND MAJOR ANTIBIOTIC CLASSES

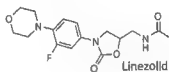
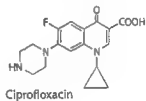
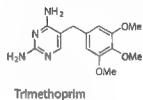
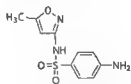
في هذا الباب من الكتاب، الفصول الثاني إلى السادس، ندرس الأصناف الرئيسة من الأدوية المضادة للبكتيريا التي أثبتت فائدتها في العلاج السريري للأمراض المعدية للإنسان. وصُنفت المضادات الحيوية إلى فئات وفقاً لأهدافها على سطح الخلية البكتيري أو داخل الخلية. كما فُحصت الأهداف الأربعة: (أ) تثبيط البناء الحيوي لجدار الخلية البكتيري (الفصل الثالث) بواسطة مضادات البينالكتام والفانكوميسين من صنف الغليكوببتيد (glycopeptides). (ب) المنع الإنتقائي للريبوسومات البكتيرية عند الوحدات الفرعية 30 إس (subunits 50S) بواسطة الأمينوغليكوسيد والتتراسيكلين وعند الوحدات الفرعية 50 إس (50S) من قبل المضادات الحيوية من عائلة الميكروليد (الفصل الرابع). (ج) تعمل الأدوية المضادة للبكتيريا مُمثلة بالسبروفلوكساسين (ciprofloxacin)، على عرقلة تكرار الحمض النووي (دنا) بواسطة عرقلة الوسائط (intermediates) المحفزة في التفاعلات الحفّازة بواسطة إنزيم توبوايزوميراز دنا (DNA topoisomerase) (الفصل الخامس). (د) يُثبط سبيل الإنزيم المشارك (coenzyme) للبناء الحيوي للفوليت والضروري لتوفير وحدات-موحودات (monomers) لتكوين الحمض النووي دنا بواسطة أدوية السلفا والتريمثوبريم (الفصل السادس)، في حين تُعطل الببتيدات ذات الأيونات الموجبة سلامة الغشاء.

## Antibacterial Drugs

### Natural Products



### Synthetic Molecules



تراكيب المضادات البكتيرية المستمدة طبيعياً واصطناعياً

## مقدمة الأصناف الرئيسية للمضادات الحيوية وطرق العمل

### INTRODUCTION TO MAJOR ANTIBIOTIC CLASSES AND MODES OF ACTION

#### الأصناف الرئيسية للمضادات الحيوية في الاستعمال السريري للإنسان

مع أنه قد تم عزل المئات إلى الآلاف من تراكيب المنتجات الطبيعية للبحث عن مضادات حيوية جديدة، إلا أن عدداً قليلاً فقط من الأنواع التركيبية أثبتت أنها فعالة وآمنة بما فيه الكفاية لأن تُطوّر للاستخدام السريري في معالجة الأمراض البكتيرية السريعة. بالإمكان تصنيف الأدوية المضادة للبكتيريا في الاستخدام الحالي بطرق متعددة.

أحدّها هو الأثر الاقتصادي كما هو مبين في الجدول (٢.١) لسنة ١٩٩٧م. كان صنف الكيفالوسبورين من مضادات البيتا لاكتام الحيوية الأكثر مبيعاً، في حين يمثل الأموكسيسيلين-أموكسيل (amoxicillin-Amoxil) الأشكال الكلاسيكية للبنسلين من مضادات البيتا لاكتام الحيوية إلى حد كبير. كما أن الجمع بين مثبطات إنزيم البيتا لاكتاماز (β-lactamase inhibitors) مع البيتا لاكتام في الأموكسيسيلين - كلافولينيت البوتاسيوم (amoxicillin-potassium clavulanate) (أوجمنتين Augmentin)، إيميبيتم - سيلاستاتين (imipenem-cilastatin) (بريماكسين Primaxin)، وأميسيلين - سلباكتام (ampicillin-sulbactam) (أناسين Unasyn) رفع مبيعات صنف البيتا لاكتام إلى حوالي ٦ بليون دولار لتلك السنة. وبلغت مبيعات المضادين الحيويين واسعي - المدى من صنف إرثروميسين، كلاريثروميسين (clarithromycin) (بياكسين Biaxin) وأزيتروميسين (azithromycin) (زيتروماكس Zithromax) ما يقرب من ٢ بليون دولار. والصنف الثالث والرئيسي، الكوينولون، ممثلاً بالسبروفلوكساسين دواء المليون دولار. هذه الأصناف الثلاثة من الأدوية تثبط البناء الحيوي لجدار الخلية، البناء الحيوي للبروتين وإنزيم تكرار الحمض النووي دنا (DNA) والإنزيم اللغافني دنا غايراز (DNA gyrase) على التوالي. ويشير الجزء الأوسع في سوق المضادات الحيوية وهذه المرة لسنة ١٩٩٥م بصورة عامة (انظر الجدول ٢.٢) إلى ثلاثة أصناف من الأدوية المضادة للبكتيريا التي حققت أكثر من ٤٠٠ مليون دولار من المبيعات في تلك السنة: أنواع التتراسيكلين، أمينوغليكوسيد، وغليكوبيبتيد. وأدرج في القائمة كذلك الدواء المضاد للدرن (للسل) (antitubercular) ريفامبين (rifampin) ونسخة الكاربابينيم (carbapenem) من البيتا لاكتام إيميبيتم

(imipenem)، وأشير كذلك إلى الأسماء التجارية، فضلا عن العداوى التي استخدمت فيها هذه الأدوية وحيث توجد مقاومة سريرية معتلة. وهذه الأصناف من المضادات الحيوية يتم تناولها بالتفصيل في هذا القسم والفصول الأخيرة من الكتاب، مع مناقشة آليات العمل، أنماط نمو المقاومة، وآفاق تطوُّر صيغ جديدة للتغلب على المقاومة. وصلت المبيعات العالمية لهذه المضادات الحيوية إلى ما يقارب ٢٤ بليون دولار بحلول عام ٢٠٠٠م.

الطريقة الثانية لتصنيف المضادات الحيوية هي بواسطة الأمراض البكتيرية التي توصف لعلاجها (مجهول Anonymous, 1999، ليفي Levy, 1998). يبين الجدول (٢.٣) بعض العداوى الشائعة، وقُسمت إلى عمودين على أساس ما إذا كانت العوامل المسببة هي البكتيريا الموجبة - لغرام (gram-positive) أم السالبة - لغرام (gram-negative). وتعكس حالة التصبيغ بصبغة غرام الفروق في تعقيد جدار الخلية (الفصل الثالث) وتعتبر مقياس أوسع للحساسية للمضادات الحيوية.

الجدول (٢.١). مبيعات المضادات الحيوية في ١٩٩٧م.

الدواء	ملايين الدولارات
<b>كيفالوسبورين Cephalosporins</b>	
روسيڤين (روش Roche) Rocephlin	933
سيفتين (جلاكسو ويلكوم GlaxoWellcome) Cefin	640
سيكلور (ليلي Lilly) Ceclor	542
فورتاز (جلاكسو ويلكوم GlaxoWellcome) Fortaz	449
كلافوران (هوفمان لا روش Hofmann LaRoche) Claforan	335
<b>ماكروليد Macrolides</b>	
بياكسين (أبوت Abbott) Biaxin	1.150
زيتروماكس (فايزر Pfizer) Zithromax	619
<b>مضادات البيكتاميز <math>\beta</math>-lactamase inhibitors</b>	
أوجمنتين (جلاكسو سميث كلاين GlaxoSmith Kline) Augmentin	1.354
بريماكسين (ميرك Merck) Primaxin	555
أوناسين (فايزر Pfizer) Unasyn	619
<b>بنسيليّن Penicillins</b>	
أموكسيل (جلاكسو سميث كلاين GlaxoSmithKline) Amoxil	406
<b>كوينولون Quinolones</b>	
سيروفلو كساسين (باير Bayer) Ciprofloxacin	1.290

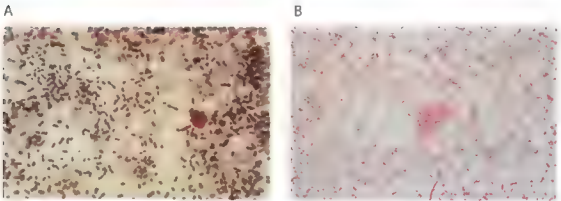
الجدول (٢,٢). سوق المضادات الحيوية في ١٩٩٥م.

الصف	المبيعات في جميع أنحاء العالم (ملايين الدولارات)	الأدوية المغطاة	العداوى التي طورت المقاومة
كيفالوسورين	8.446	سيفاكلور (Cefaclor) سيفروكسيم (Cefuroxime)	التهاب القصبة، التهاب الرئوي، التهاب السحايا
بنسيلين	4.413	أموكسيسيلين، أميسيلين (Amoxicillin, Ampicillin)	الالتهاب الرئوي، الإنسمام الدموي، التهاب القصبة
فلوروكوينولون	3.309	سيرفلوكساسين، أوفلوكساسين (Ciprofloxacin, Ofloxacin)	متلازمة الصدمة السمية، التهاب السحايا
ماكروليد	2.927	كلاريثروميسين، إريثروميسين Clarithromycin, Erythromycin	متلازمة الصدمة السمية، التهاب السحايا
تتراسيكلين	744	مينوسيكلين Minocycline	عداوى مجرى البول، مرض الحوض الالتهابي
أمينوكلينوسيد	729	جنتاميسين Gentamicin	العداوى المعوية، الإنسمام الدموي
غليكوبيبتيد	462	فانكوميسين Vancomycin	العداوى المعوية
جميع المضادات الحيوية الجهازية الأخرى	1.873	إميبينيم، ريفامبين (Imipenem, Rifampin)	التهاب القصبة، الدرن

الجدول (٢,٣). البكتيريا الشائعة التي تسبب العداوى.

العداوى	الممرضات السالبة - لفرام	الممرضات الموجبة - لفرام
الحروق	الزائفة الزنجارية	المكورة المتفوية الذهبية
عداوى الجلد		المكورة المتفوية الذهبية
الحلق		المكورة العقدية القيحية
التهاب الأذن الوسطى	المستعمية النزلية	المكورة العقدية الرئوية
الالتهاب الرئوي	المستعمية النزلية	المكورة العقدية الرئوية
التهاب شغاف القلب		المكورة المتفوية الذهبية، المكورة المعوية
الإنسمام (الإنتان) الدموي	الإشريكية القولونية	المكورة المتفوية الذهبية، المكورة العقدية القيحية
القناة المعوية المعوية	السالونلا ملهية الأمعاء - الغالبية البوابية، الإشريكية القولونية، الشيغلا الزحارية	
القناة البولية	الإشريكية القولونية	أنواع المكورة المعوية

تتمتع الكائنات الدقيقة السالبة - لغرام بحاجز سليم ضد نفاذية الغشاء الخارجي، في حين أن الكائنات الدقيقة الموجبة - لغرام لا تتمتع بذلك، وبشكل عام، ولهذا السبب، فالمضادات الحيوية كالفانكوميسين تستطيع أن تمنع النمو البكتيري للبكتيريا الموجبة - لغرام وليس للبكتيريا السالبة - لغرام، كما شُرح بالتفصيل في الفصول اللاحقة من هذا القسم. بعد اختبار التصبغ، تظهر البكتيريا الموجبة - لغرام أرجوانية/سوداء في حين تُظهر البكتيريا السالبة - لغرام ألواناً حمراء. تُظهر اللوحة الملونة (A ٢.١) صورة للبكتيريا المكورة العقدية الرئوية (*Streptococcus pneumoniae*) الموجبة - لغرام والمعزولة من السائل المخي الشوكي (cerebrospinal fluid) لمريض مصاب بالتهاب السحايا (meningitis). تُظهر اللوحة الملونة (B ٢.١) صبغة غرام لزرعة الإشريكية القولونية (*Escherichia coli*)، مع الظهور النمطي الأحمر للبكتيريا السالبة - لغرام.



اللوحة الملونة (٢.١). صبغات غرام للمكورة الرئوية الموجبة - لغرام (A) والإشريكية القولونية السالبة - لغرام (B). (من إليوت وآخرون 1997، Elliot et al.).

تعتبر المكورات العقدية (streptococci) مُمرضات مهمة في الالتهاب الرئوي، التهاب السحايا، وعداوى الأذن الوسطى في حين أن المكورات العنقودية (staphylococci) الموجبة - لغرام والمكورات المعوية (enterococci) مُمرضات ذات إشكالية في عداوى بعد - الجراحة. ما زالت المتفطرة السلية (*Mycobacterium tuberculosis*) الموجبة - لغرام تسبب ملايين الوفيات سنوياً. كما أن التاريخ الكارثي للطاعون والكوليرا سببه نوعان من البكتيريا السالبة - لغرام، اليرسينية الطاعونية (*Yersinia pestis*) والضممة الكوليرية (*Vibrio cholerae*)، على التوالي، في حين أن سلالات الإشريكية القولونية، السالمونيلا (*Salmonella*) والشيغيلا (*Shigella*) هي الأسباب الشائعة للأمراض الاسهالية. غالباً ما توصف الزائفة الزنجارية (*Pseudomonas aeruginosa*) السالبة - لغرام بأنها مُمرضات انتهازية (opportunistic pathogen)، وتسبب أمراض في الحالات التي قد يكون للمريض مناعة منقوصة و/أو بعض الأمراض المستبعدة مثل التليف الكيسي (cystic fibrosis). وسنلاحظ أن الزائفة الزنجارية جوانب كثيرة تسهم في انخفاض الحساسية للعديد من أصناف الأدوية المضادة للبكتيريا، مما يجعلها مُمرض صعب المعالجة.



لن يركز هذا الكتاب على نواحي الصيدلة السريرية للأدوية المضادة للمكروبات الموجودة أو النظم المستخدمة في معالجة الأمراض المعدية. إن اثنين من الكتب الممتازة الوافية وذات التغطية الحديثة التي تخص الجوانب الرئيسية للمضادات الحيوية هي *الأدوية المضادة للمكروبات* (The Antimicrobial Drugs) (الطبعة الثانية)، بواسطة شولار ويرات (Scholar and Pratt, 2000)، و*المعالجة الكيميائية المضادة للمكروبات* (Antimicrobial Chemotherapy) حرّرت بواسطة جرينود (Greenwood, 2000). وفي الكتاب الأخير يوجد قسم مخصص لمعالجة الأمراض البكتيرية في مختلف الأنسجة، مثل عداوى القناة التنفسية، وعداوى القناة البولية، وعداوى الجلد والأنسجة الرخوة، وتجرحم الدم، والتهاب شغاف القلب، والدرن.

بعض العداوى البكتيرية مثل التهاب الرئوي غالباً ما تُكتسب من بيئة المجتمع، وكذلك الطاعون والكوليرا والأمراض الإسهالية، في حين أن البعض الآخر قد يُكتسب أثناء الإقامة بالمستشفى أو ما يسمى بالعداوى المستشفوية (nosocomial infections). تقع المكورات العنقودية والمكورات المعوية التي تسبب عداوى بعد - الجراحة (post-surgical infections) ضمن الفئة الأخيرة، ونظراً لأنها توجد في بيئات تُستعمل فيها المضادات الحيوية بشكل مستمر، فالكثير من سلالات المكورات العنقودية والمكورات المعوية مقاومة للمضادات الحيوية وتُعتبر بكتيريا ذات إشكالية على وجه الخصوص (لوي Lowy, 1998). إن المكورات العنقودية ذات المقاومة للينسليّن وخاصة للمثسيلين (methicillin) يمكن أن تحدث بمعدل عالٍ (40% معدل الإصابة بالمكورة العنقودية الذهبية المقاومة للمثسيلين (MRSA)) و(50% بالمكورة العنقودية البشرية (S.epidermidis) في بعض الأجنحة السريرية). وتتميز هذه العوامل المسببة للأمراض بمعدلات وفيات عالية (25-63%) في عداوى الدم بالمستشفى (تجرثم الدم bacteremias). وفي أواخر التسعينيات بلغت عداوى المستشفى بالمكورات المعوية إلى 12% في بعض المدن الأمريكية مع زيادة 15% في معدل المقاومة للفانكوميسين. وينتج عن العداوى بالمكورات المعوية المقاومة للفانكوميسين (vancomycin-resistant enterococcal) (VRE infections) معدل وفيات من 42-81%.

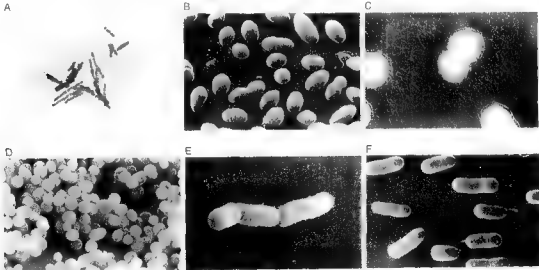
الخط الأول النموذجي لسبل المعالجة بالمضاد الحيوي، كما نُشر في الرسالة الطبية (The Medical Letter) (مجهول 2001)، أنشخص في الجدول (٢،٤).

الجدول (٢،٤) يتداخل مع بيانات الجدولين (٢،١) و(٢،٢) على استخدام الكيفالوسبورين، ماکروليد، كوينولون، أمينوغليكوسيد، وفانكوميسين. ويلاحظ أيضاً تجميعاً (توليفة) ترايثيوريم - وسلفاميثوكسازول (aminomethoprim-sulfamethoxazole combination)، فوسفوميسين (fosfomycin)، وكوكيتيل الدواء المضاد للدرن، وجميعها سيتم تقييمها أكثر في فصول هذا القسم. يمكن الحصول على قائمة أوسع مع المضادات الحيوية الموصى بها للأمراض البكتيرية والعوامل المرجحة المسببة في الجدول (١،٣) من شولار ويرات (Scholar and Pratt, 2000)، وكذلك جدولهم (١،٥) الذي يشتمل على المضادات الحيوية المستعملة في التوقية الجراحية على أساس المواقع الجراحية النظيفة مقابل الملوثة.

تُستخدم العديد من المصادات الحيوية في حالات معينة ضد المُمْرَضات الخاصة ، على سبيل المثال ، يُستخدم باستراسين (bacitracin) موضعياً ضد عداوى الجلد وتتراسيكلين ضد العداوى التي تسببها اللولبية (*Helicobacter*) ، الضمة الكوليرية ، والبروسيلة (*Brucella*) . وبعض هذه العوامل المسببة للأمراض تظهر في الشكل (٢،١) ، الذي يسلط الضوء على أشكالها (morphology) المتميزة.

الجدول (٢، ٤) . موجز لسبل الخط - الأول النوعي للمعالجة بالمصادات الحيوية

العدوى	المُمْرَض المرجح	الاختيار الأول المعقول للمعالجة
التهاب الرئة المكتسب من المجتمع	المكورة العقدية الرئوية	للمرضى النومين: واسع - المدى أو كيفالوسبورين "الجيل الرابع" ، للمرضى المتحرّكين: مأكروليد للتوفر فموياً أو فلوروكوينولون
التهاب الرئة المكتسب من المستشفى	الكتيريا السالبة - لعمام أو المكورة العقدية	للزائفة الزنجارية: كيفالوسبورين واسع المدى أو "الجيل الرابع" ، إيميبين ، أمينوغليكوسيد ، وفانكوميسين لـ MRSA
التهاب السحايا	المكورة الرئوية أو السيرية السحائية	كيفالوسبورين واسع - المدى + فانكوميسين + ريفامبين
متلازمة الإنسان	المصبات السالبة لعمام ولكن كذلك المكورات الموحية لعمام مثل MRSA	كيفالوسبورين + أمينوغليكوسيد ، فانكوميسين
عداوى القناة البولية	الكتيريا السالبة لعمام مثل الإشريكية القولونية	سلفاميثوكسازول + تريإيثوبريم ، فلوروكوينولون ، فوسفوميدين
الدرن	المتفطرة السلية	أيزونيايد + ريفامبين + بيرازيناميد + إيثامبيوتول



الشكل (٢، ١) . عرض صور المجهر الإلكتروني لبعض المُمْرَضات البكتيرية. (A) المتفطرة السلية في البلغم، (B) المكورة النعوية البازلية (*Enterococcus faecalis*)، (C) المكورة العقدية الرئوية، (D) المكورة العقدية النعوية، (E) الزائفة الفلورية (*Pseudomonas fluorescens*)، (F) المستدمية النزلية (*Haemophilus influenzae*)، للزائفة غير المحفوفة، جميعاً © د. م. فليز (D.M Phillips) ما عدا الشكل (A) © م. آبي (M.Abbey).

كل واحد من أصناف المضادات الحيوية المعروضة في الجدول (٢.٥) قد ظهر بواسطة الخبرة المتراكمة أنه يكون أكثر فائدة ضد بعض الممرضات البكتيرية أكثر من غيرها في الحالات السريرية المختلفة. وعلى الأرجح فإن القيود على استعمالها هي مزيج من كل من مستويات المضادات الحيوية وكفاءة الاختراق (penetration efficacy) في مكان العدوى والحساسية الداخلية لهدف المضاد الحيوي في البكتيريا المستقبلة (recipient bacteria). ولقد تقدمت مضادات الببتاكتام الحيوية من خلال عدة مراحل من الاستمثال للببتاكتام ذي الخمس - حلقات (five-ring) وإلى أربعة تكرارات للكيفالوسبورين ذي الست - حلقات (six-ring) للتغلب على ظهور السلالات المقاومة للأجيال السابقة من هذه الأصناف من المضادات الحيوية. وبالمثل، في مضادات الميكروبيد، سواء إريثروميسين الأصلي وما تبعه مثل كلاريثروميسين وأزيثروميسين وكليهما في السوق، تظهر تراكيب بعض أنواع الببتاكتام والكيفالوسبورين التي تستخدم على نطاق واسع في الوقت الحالي في الجدول (٢.٥)، وكذلك مزيج الأموكسيسيلين والكلافولانيك، الذي يباع تحت الاسم التجاري، أوجمنتين (Augmentin). كما تستخدم المضادات الحيوية ضيقة - المدى (إريثروميسين) والواسعة - المدى (أزيثروميسين وكلاريثروميسين) الأعضاء من مضادات بوليكتيد ميكروبيد (macrolide polyketide) على نطاق واسع وكذلك الفلوروكوينولونات (fluoroquinolones) والأمينوغليكوسيد ممتلئة أيضاً، جنباً إلى جنب مع مضادات الغليكوبيبتيد (glycopeptides) الحيوية فانكوميسين وتيكوبلاتين (teicoplanin). أما مجموعة الترايماثوبريم - سلفاميثوكسازول، وهي ضمن أقدم المضادات الحيوية فما زالت في السوق بعد عقود من الإدخال السريري لها.

الجدول (٢.٥). المضادات الحيوية الرئيسية: تركيبات الأصناف، الأهداف، وآليات المقاومة.

المضاد الحيوي	الهدف	آلية المقاومة
جدار الخلية ببتاكتام	ترانسبيبتيداز / Transpeptidases ترانسفليكوزيلاز transglycosylase (PBPs) <sup>1</sup>	ببتاكتامازات $\beta$ -lactamases، طفرات PBP
فانكوميسين تيكوبلاتين	د-ألا-ألا-المحطة الفرعية للببتيدوغليكان والدهن 11 (-Ala-D-Ala terminal of peptidoglycan and lipid 2)	إعادة برمجة د-ألا-ألا إلى د-ألا-ألا-ألا-ألا أو د-ألا-ألا-ألا-ألا (D-Ala-D-Lac or D-Ala-D-Ser)
تكوين البروتين إريثروميسين	ببتيديل ترانسفيراز (ناقلة الببتيديل) (peptidyltransferase) / ريبوسوم	مثيلة rRNA / تلحق
تتراسايكلين	ببتيديل ترانسفيراز (ناقلة الببتيديل)	تلحق الدواء
امينوغليكوسيد	ببتيديل ترانسفيراز (ناقلة الببتيديل)	تعديل الدواء
أوكسازوليدينون	ببتيديل ترانسفيراز (ناقلة الببتيديل)	غير المعروف
تكرار / وتعديل دنا فلوروكوينولون	دنا جيراز (DNA gyrase)	طفرات الجيرين

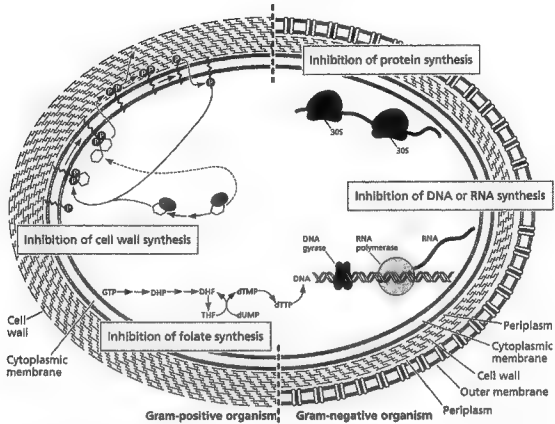
<sup>1</sup> PBP: البروتين المرتبط بالنسليين.

### الأهداف التي تصبها المضادات الحيوية في البكتيريا

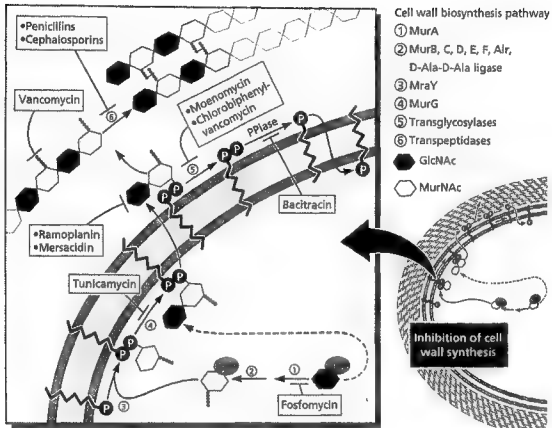
تم إثبات آليات عمل معظم الأدوية المضادة للبكتيريا بعد اكتشاف أن للجزيئات آثار على النمو البكتيري، إما بإبطاء النمو إلى حد كبير (مثبط للنمو) وإما قاتل للبكتيريا (مبيد للبكتيريا) ثم تم فحص الجزيئات ذات الفائدة العلاجية الواضحة والمحتملة لدراسة الأساس الجزيئي لخصائصها المضادة للبكتيريا وانتقائيتها (selectivity) وكذلك السمية المصاحبة لها وقد انبثقت أربعة أهداف رئيسة في الممرضات البكتيرية بعد عقود من دراسة آلية عمل المضاد الحيوي (الشكل ٢.٢) وهي التكوين الحيوي لجدار الخلية، والتكوين الحيوي للبروتين، تكرار وإصلاح الحمض النووي دنا، والتكوين الحيوي للإنزيم المساعد للفلويت. وكل من هذه الأهداف وآليات عمل الأصناف الرئيسية من المضادات الحيوية التي تتعرض واحداً أو أكثر من الخطوات في هذه السبل سوف تناقش بالتفصيل في الفصول من الثالث إلى السابع. (الشكل ٢.٢) عبارة عن رسم توضيحي للفصول من الثالث إلى العاشر، وسوف تركز هذه الفصول على توضيح المسارات المتميزة لعمل المضادات الحيوية والمقاومة للمضادات الحيوية.

أحد المبادئ الرئيسية للقتل الانتقائي للبكتيريا مع تجنب المضيف البشري الذي يستعمل المضاد الحيوي، هو بأن يعمل المضاد الحيوي ضد الهدف الموجود في البكتيريا والذي لا يوجد في الحيوانات والإنسان. ينطبق هذا المبدأ على هدفين من الأهداف المحددة، وهي إنزيمات البناء الحيوي لجدار الخلية البكتيرية وإنزيمات البناء الحيوي لمسارات حمض الفوليك (folic acid)، التي ليس لها نظيراتها في الإنسان. ومن الواضح أن للهدفين الرئيسين الآخرين للمضادات البكتيرية، البناء الحيوي للبروتين وآلية تكرار وإصلاح الحمض النووي دنا نظراء في الإنسان، ولكن توجد اختلافات تركيبية كافية في الحمض النووي وآلية بناء البروتين بين بدائية النواة (prokaryotic) وسوية النواة (eukaryotic) مما يحقق الشيط الانتقائي.

عمليات التكوين الحيوي لجدار الخلية والبناء الحيوي للبروتين على الريبوسومات والتي كانت تاريخياً موقع عمل أكبر عدد من المضادات الحيوية وربما بسبب العديد من الخطوات الإنزيمية التي توفر فرص متعددة لتعطيل هذه الخصائص الرئيسة للخلية البكتيرية السليمة. إن التسلسل الجيني (genomic sequencing) لأهم مسببات الأمراض البكتيرية قد اكتمل أساساً، والجهود المبذولة لتحديد الجينات الأساسية أو الجينات المعززة للفوعة (virulence-enhancing genes) جارية على قدم وساق، كما جاء في الفصل الخامس عشر، والتي تعرض نهج جزيئي وجيني جديد للأهداف المقصودة الجديدة التي لم تكن مستهدفة بواسطة المنتجات الطبيعية من المضادات الحيوية القائمة. وستكون هذه هي المرشحات الرئيسة للمسوحات المبنية على المكتبة -الاصطناعية لتطوير مضادات حيوية فعالة جديدة.



الشكل (٢، ٢). الأهداف الرئيسة لعمل المضادات البكتيرية. (مقتبسة من ملصق عن آليات العمل والمقاومة للمضادات الحيوية / *Mechanisms of Antibiotic action and resistance*، سي والش، جي تروجر، بي كورفالين، وجي ديفيس (2001)، الاتجاهات في علم الأحياء الدقيقة (Trends In Microbiology)، لايسيت للأمراض المعدية (Lancet Infectious Diseases)، الرأي الحالي في الأحياء الدقيقة (Current Opinion in Microbiology)، الاتجاهات في الطب الجزيئي (Trends in Molecular Medicine)).



المضادات الحيوية التي تعمل على التكوين الحيوي لجدار الخلية

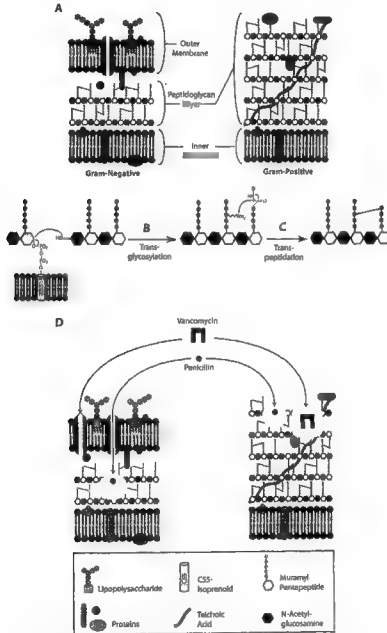
## المضادات الحيوية التي تعمل على البناء الحيوي لجدار الخلية ANTIBIOTICS THAT ACT ON CELL WALL BIOSYNTHESIS

يتناول هذا الفصل المضادات الحيوية التي تعترض أي من الخطوات المتعددة في تجميع - جدار الخلية البكتيري (cell wall assembly)، من التوليد الجيني (biogenesis) للموحدات (monomers) إلى التجميع المتخصص، الانتقال عبر الغشاء، والربط - التبادلي خارج الخلية (extracellular cross-linking) وتقوية الهيكل الخارجي لطبقات الببتيدوغليكان. في الصفحة المواجهة للشكل (٢.٢) توجد صورة مكبرة لجزء من الشكل وهي تظهر التفاعلات على البناء الحيوي لجدار الخلية والمضادات التي تمنعه.

أوجه الشبه والاختلاف في تركيب جدار الخلية الموجبة - لغرام والسالبة - لغرام  
التي تؤثر على الحساسية للمضادات الحيوية

البكتيريا مثل الإشريكية القولونية والسالمونيلا والزائفة واليرسينية هي بكتيريا سالبة - لغرام، بينما المكورات العنقودية، والمكورات العقدية، والمكورات المعوية موجبة - لغرام. ويعتمد الاختلاف في الاحتفاظ بالصبغة، "كريستال البنفسج" (crystal violet) في محلول الإيثانول (ethanol) على مدى سلامة الغشاء الخارجي للبكتيريا (الكائنات السالبة - لغرام) أو إذا كان غير كامل ومجزأ (الكائنات الموجبة - لغرام) (الشكل ٣.١ A) (لي وشنيوند 2001، Lee and Schneewind، نافاري وشنيوند 1999، Navarre and Schneewind، نيكايكو 1994، Nikaido). لكل من البكتيريا السالبة والموجبة - لغرام طبقة الببتيدوغليكان كجزء من تركيب جدار الخلية لها. إن طبقة الببتيدوغليكان عموماً ولحد بعيد أكثر سماكة ومتعددة الطبقات في البكتيريا الموجبة - لغرام (الشكل ٣.١ A). وتشابك طبقة الببتيدوغليكان، مع خيوط الجليكان والبيتيد المتعامدة (orthogonal glycan) (الشكل ٣.١ B)، الربط - التبادلي (cross-linking) الإنزيمي لخيوط الجليكان، بواسطة عمل إنزيم ترانسغليكوسيلاز (transglycosylase)، وكذلك خيوط البيتيد بواسطة عمل إنزيم ترانسبيتيداز (transpeptidase) (الشكل ٣.١ C). يدخل الربط - التبادلي وصلات ربط تساهمية للشبكة، ويتيح القوة الميكانيكية، كما وتوفر تراكيب الحاجز الرئيسة أمام قوى الضغط

التنافذي (الأزموزي) (osmotic pressure) التي قد تقتل البكتيريا. تمنع العديد من المضادات الحيوية التي تؤثر على جدار الخلية البكتيري، الإنزيمات أو تنحي المواد المشاركة في تجميع الببتيدوغليكان والربط - التبادلي، كما سنلاحظ في الأقسام اللاحقة من هذا الفصل.



الشكل (٣،١). تركيب جدار الخلية للبكتيريا الموجبة والسالبة - لغرام: (A) الاختلافات في نفاذية حواجز الغشاء الخارجي، (B) إطالة الببتيدوغليكان بواسطة عمل إنزيم ترانسغلوكوسيلاز، (C) الربط - التبادلي للببتيدوغليكان بواسطة عمل إنزيم ترانسبيبتيداز، (D) اختراق المضادات الحيوية للغشاء الهولي (السيوبلازمي) في البكتيريا الموجبة - لغرام.



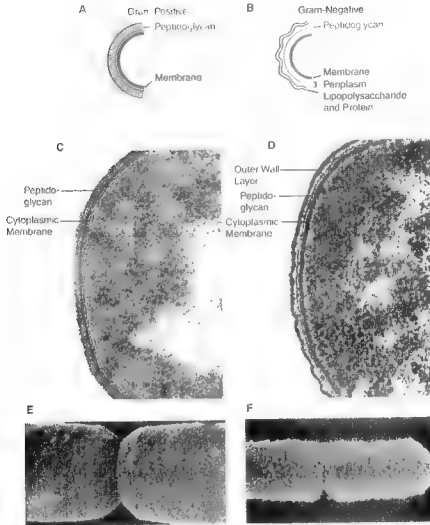
لقد وُصفت طبقة الببتيدوغليكان السميكة للبكتيريا الموجبة - لغرام بأنها جزيء عضوي سطحي، لعرض الكربوهيدرات والبروتينات في حين أن الغشاء الخارجي هو جزيء السطح العضوي المكافيء لهذا في البكتيريا السالبة - لغرام (لي وشنيوند 2001، Lee and Schneewind). إن لكل من البكتيريا السالبة والموجبة - لغرام بروتينات ترتبط بشكل تساهمي مع سلاسل الببتيد (peptide chains) في طبقة الببتيدوغليكان (الجدول ٣،١) (برون وهتكي Braun and Hantke, 1974). وبعض بروتينات الغشاء الخارجي هذه تعمل كلاصقات (adhesions) للبروتينات المحددة على أغشية الخلية للفقرات، مثل غزو البروتين من البرسنية السلية الكاذبة (*Yersinia pseudotuberculosis*)، الذي يرتبط مع بروتينات بيتا ١- إنتجرين (B1-integrin) المنتشرة على الخلايا المضيئة وهو التفاعل المطلوب للاختراق البكتيري إلى الأنسجة المضيئة المعوية (أيسبرج و لينج 1990، Isberg and Leong). تتصل بروتينات السطح المرتبطة مع طبقة الببتيدوغليكان السميكة في البكتيريا الموجبة - لغرام أثناء التكوين الحيوي بفعل إنزيم سورتاز (sortase)، الذي نوقش في الفصل الخامس عشر كهدف محتمل للمضادات البكتيرية. إن الغشاء الخارجي للبكتيريا السالبة - لغرام غير متماثل في تكوين الدهن (الشحم)، حيث إن الدهون الفسفورية (phospholipids) موجودة في الطبقة (الورقة) الداخلية ودهن A (lipid A) هو الدهن الغالب في الطبقة الخارجية (ريز 1987، Raetz)، مع سلاسل مستضدات O (O-antigen chains) المتغيرة المرتبطة تساهمياً والتي تواجه البيئة الخارجية كسطح كربوهيدرات عالي الإستعداد (الشكل ٣،١ A). ولطبقة الببتيدوغليكان السميكة في البكتيريا الموجبة - لغرام كذلك بوليمرات (مكثورات) أحماض التيكويك (polymers of teichoic acids) مرتبطة بها (الشكل ٣،١ A). كما يمكن لكربوهيدرات وبروتينات السطح أن تخدم العديد من الأدوار، ويشمل ذلك الحماية ضد قتل الخلية - المضيئة، تقديم ريبطات (مركبات ترابطية) (ligands) محددة للارتباط بالسطوح الأحيائية والأحيائية، ويسهل التحويل بين أشكال خلية الحرق السطحي (single cell forms) (حيوانات نباتات صغيرة جداً) (planktonic) ومجتمعات القشرة الحيوية الرقيقة (الفلم الحيوي) (biofilm) للبكتيريا. إن البكتيريا الموجبة - لغرام حساسة لبعض المضادات الحيوية التي لا تعمل أو تعمل بشكل ضعيف (مثال: ضد الزائفات *pseudomonads*) ضد البكتيريا السالبة - لغرام، وهذا الاختلاف يتعلق بقدرة المضادات الحيوية على أن تُعطل بواسطة الحد من أحجام مسام (pore sizes) بروتينات بورين (proteins porin) في الأغشية الخارجية للكائنات السالبة - لغرام (الشكل ٣،١ A و D) (كوبنك وآخرون 2000، Koebnik *et al*). كما وأنه لا يوجد مثل هذا الحاجز للانتشار في البكتيريا الموجبة - لغرام. فالفانكوميسين، على سبيل المثال، لا يستطيع اختراق الغشاء الخارجي وعليه فهو فعال كمضاد حيوي ضد الممرضات الموجبة - لغرام فقط. وفي البكتيريا السالبة - لغرام، الفضاء بين الأغشية الداخلية والخارجية هو الفضاء حول الجبلة (periplasmic space) (الشكل ٣،١ D). إضافة إلى خيوط طبقة الببتيدوغليكان وللجبلة إنزيمات محللة بالماء (hydrolytic enzymes) لتحويل النيوكليوتيدات الناقصة والمتعددة القسمة (oligomeric and nucleotides polymeric)، البيبتيدات، والسكريات (saccharides) إلى موحودات (monomers) والتي

من ثم ترتبط بواسطة بروتينات حول الجبلّة الناقلة، والمقدمة إلى بروتينات الغشاء الناقلة ومن ثم إدخالها. ويوجد كذلك بروتينات تعمل كوصيفات تساعد البروتينات التي يتم إفرازها إلى الغشاء الخارجي لتتشتت وتعتبر فضاء الجبلّة. إن كل من تراكيب جدار الخلية هذه هو هدف محتمل للإعاقة بواسطة المضادات الحيوية. ويمكن أن تؤدي الخواص المتميزة للأغشية الخارجية حتى بين البكتيريا السالبة - لغرام إلى الاختلافات في النفاذية للمضادات الحيوية. فعلى سبيل المثال، تُظهر الأغشية الخارجية للزائفة الزنجارية حوالي ١٠٠ - أضعاف أقل نفاذية للكيفالوسبورين مثل كيفالوريدين (cephaloridine) (نيكايدو 1998, Nikaido) عن غيرها من البكتيريا السالبة - لغرام ويرجع ذلك جزئياً إلى البورينات ذات المسام الصغيرة التي تحد من المرور الداخلي للمضادات الحيوية إلى فضاء الجبلّة.

المظاهر المميزة لجدران الخلية للبكتيريا السالبة لغرام والموجبة - لغرام يمكن تمييزها في كل من المراسم الدقيقة الإلكترونية الانعكاسية (transmission electron micrographs) والمراسم الدقيقة الإلكترونية التفرسية (scanning electron micrographs). وفي الشكل (A ٣.٢ و B ٣.٢)، عكست مخططات جدار الخلية بواسطة صورة أروباكتر كريستالوبيتيز (*Arthrobacter crystallopoietes*) الموجبة - لغرام (الشكل ٣.٢ C) والشعرة البيضاء العفنة (*Leucothrix mucor*) السالبة - لغرام (الشكل ٣.٢ D). صور المسح للعصية الرقيقة (*Bacillus subtilis*) (الشكل ٣.٢ E) والإشريكية القولونية السالبة - لغرام (الشكل ٣.٢ F) تُظهر أنسجة (بنية) سطح مختلفة.

المجدول (٣، ١). البروتينات المرتبطة بشكل تساهمي مع البعديوغليكان.

الآلية	البروتين المثال	الغلة الوظيفية
تحول جيني - مضاد لليلعمة تحول جيني - مضاد لليلعمة يلعب الجاذب الكيميائي	البروتينات من عائلة M- بروتين A CSa بيتيلاز	الحماية من جهاز المناعة
ترتبط بالغشاء الخارجي تتجمع لتكوّن خيوط	بروتينات شحمية أهداب	التركيبية
يربط مكونات قالب خارج الخلية يرتبط بيتا ١ إنتجرين ( $\beta$ -1 integrin)، غزو النسيج. يسهل غزو الخلية المضيفة	إم إس سي آر إيه إم إم إس (MSCRAMs) الغزو إنترنالين (Internalin)	العدوى / الفوعة
يفلق السكريد يفلق الببتيد يفلق قليل - ناقص النيوكليوتيد oligonucleotides	جليكوسيداز glycosidase ببتيداز peptidase نيوكليوتيداز nucleotidase	اكتساب الغذاء
ترتبط بمادة ربط المكوّنات المعوية يمنع التزاوج بين البكتيريا ذات البلازميدات المشابهة بواسطة آلية غير معروفة	مادة تجميع بروتين استبعاد السطح	التصاق الخلية البكتيرية



الشكل (٣،٢). جدران الخلية للبكتيريا. (A) رسوم تخطيطية لجدران الخلية الموجبة لغرام (A) والسالبة - لغرام (B). (C) و (D) تظهر المراسم الإلكترونية الدقيقة لجدران للبكتيريا الموجبة - لغرام، أروبا كتر كريستالوويتز (C)، و للبكتيريا السالبة - لغرام، الشعرة البيضاء العفنة (D). (E، F) المراسم الإلكترونية المقترسة النقية للبكتيريا الموجبة - لغرام (العصية الرقيقة) (ث) والسالبة - لغرام (الإشريكية القولونية) (F). لاحظ بنية السطح في الخلايا التي تظهر في اللوحين E، F. الخلية الواحدة للعصية الرقيقة أو الإشريكية القولونية هي حوالي 1 ميكرومتر في القطر.

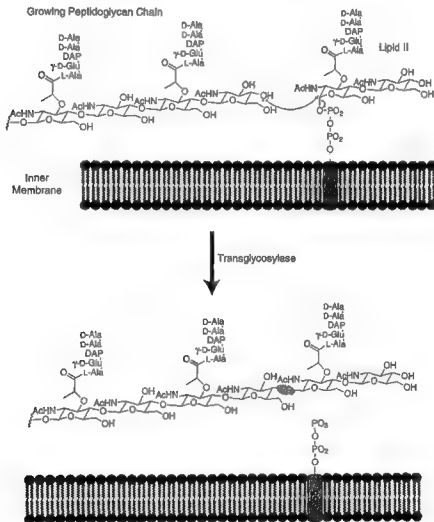
ثلاث مراحل للتجميع الإنزيمي للبيتيدوغليكان: سيتوبلازمي (هيولي)،

المرتبط بالأغشية، وخارج السيتوبلازمي

الإنزيمات في المرحلة السيتوبلازمية لمسار مور (Mur pathway): مور أ- ف (Mur A-F)

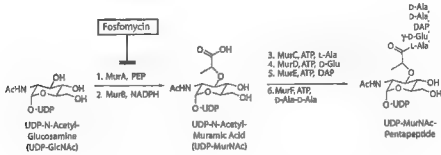
عندما تنمو وتنقسم البكتيريا، يجب وضع طبقة (أو طبقات) البيتيدوغليكان بشكل أفقي وجانبي على حد سواء (لتشكيل حاجز) (هولتجي 1998، Holtje). إن وحدة البيتيدوغليكان التي أضيفت إلى طبقات البيتيدوغليكان

المتددة هي بيتيد مخموس ثنائي السكريل (disaccharyl pentapeptide) والتي قُدِّمت في سطح الغشاء في حين أنها مرتبطة بشحم (دهن) سي ده (undecaprenyl) (C<sub>55</sub>) (شحم ٢) في رابطة فوسفودايستر (phosphodiester linkage) التي يحدث لها إنفلاق في خطوة نقل الغليكوسيل (transglycosylation) (الشكل ٣.٣). يتوفر لكل من الدهن، السكريات وأجزاء (أنصاف) البيتيد المخموس (pentapeptide moieties) إنزيمات متخصصة بتجميع البيتيدوغليكان. تعرف طبقة البيتيدوغليكان كذلك باليورين (murein) (من اليونانية "حائط") وتسمى الجينات للخطوات الأولى في التجميع *murA-G* (فان هيجينورت 2001a).



الشكل (٣.٣). عمل الترانسغليكوسيلازات (transglycosylases) على C<sub>55</sub> - الشحم - المرتبط بركيزة البيتيد المخموس إن - أسيتيل موراميل (MurNAc) (N-acetyl-muramyl).

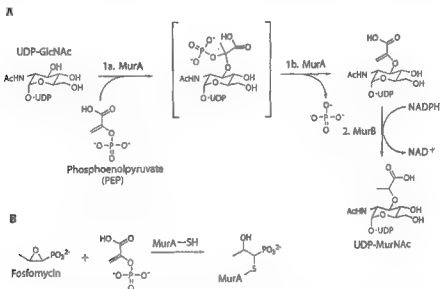
أُنجزت المرحلة السيتوبلازمية لتجميع الميورين (murein assembly) بواسطة الإنزيمات الست ميور-أسف (MurA-F)، يبدأ من نيوكليوتيد السكر الثاني الفسفور UDP-N-أسيتيل غلوكوسامين (UDP-GlcNAc) و-UDP-muramyl-L-Ala-D-γ-Glu، و-UDP-GlcNAc (الشكل ٣،٤). تُصنع UDP-GlcNAc ذاتها بواسطة إنزيم ذا وظيفة ثنائية، GlmU (جيهرنج وآخرون 1996، Gehring *et al.*، مينجن - لاسريلوكس Mengin-Lecreulux وهيجنورت Heijenoort، 1994)، الذي يعمل على أستلة الغلوكوسامين-IP ومن ثم على uridylylates.



الشكل (٣،٤). تجميع UDP-MurNAc الببتيد الخماسي بواسطة الإنزيمات الستة ميور A-F.

يتطلب تحويل GlcNAc إلى نصف ميوراميل بناء ٣-أو-إثر الأكتيل (3'-O-lactyle ether) من بقايا GlcNAc وينجز ذلك بواسطة إنزيمين هما ميور A و ميور B (murA and mur B) (الشكل ٣،٥). يستخدم ميور A فوسفونول بيريوفيت (phosphoenolpyruvate) (PEP) كمادة مشاركة ويثبت ترابط إثر ٣-أو إينول بيريوفيت (3'-O-enolpyruvate) بواسطة إضافة / حذف تسلسل غير عادي، حيث إن ٣-أكسجين (3'-oxygen) في GlcNAc يضاف إلى الرابطة المضاعفة ل PEP، ويجبو- (regio-) ويتجسيم نوعي (stereospecifically) عند C<sub>2</sub> و C<sub>3</sub> تصبح مجموعة مثيل (methyl group) بشكل عابر (كاسيدي وكاهان 1973، Cassidy and Kahan، والش وآخرون 1996a، *et al.* Walsh). والخطوة الثانية هي التخلص بواسطة الإنزيم - الحفّاز من H<sup>+</sup> و Pi لتوليد إثر الإينول (enol ether). يعتبر ميور B هو مؤكسد للفلافوبروتين (flavoprotein) الذي يُضيف هيدريد (hydride) إلى C<sub>3</sub> و يبروتونيت C<sub>2</sub> (protonates) لتوليد إثر اللاكتيل (lactyle ether) وإنتاج حامض الميوراميك (acid UDP- muramic) (بنسون وآخرون Benson *et al.*, 1993). إن كاربوكسيلات إثر اللاكتيل هو الموضع لبناء سلسلة الببتيد اللاحقة بواسطة ميور F.E.D.C. لقد تم تحديد الأشعة السينية لتراكيب ميور A و ميور B (بنسون وآخرون ١٩٩٥، شونبرون وآخرون Schonbrunn *et al.*, 1996، سكارزينسكي وآخرون Skarzynski *et al.*, 1996) وتعزز الملاحظات الآلية المذكورة أعلاه معماريا. يعتبر ميور A هو الهدف للمضاد الحيوي فوسفوميسين (انظر الجدول ٢.١ الموصى باستخدامه في معالجة عدوى المسالك

البولية)، هو مستقلب ثلاث - كربونات إيبوكسي بوبيل فوسفونيت (epoxy propyl phosphonate) بسيط من المتسلسلات (streptomycetes) (سيتو 1997, Seto) والذي يعمل لتعطيل مُناظر PEP (الشكل ٣,٥). يوجد موقع سيستين (cysteine) نشط في ميورA، Cys-115 في ميورA في الإشريكية القولونية الذي فيه تفتح سلسلة ثيوليت الجانبية (thiolate side chain) إيبوكسيد (epoxide) الفعال للفوسفوميسين المقيد، لينتج جبل تساهمي مستقر ليسد الموقع الفعال ويمنع الانتهاء المحفز الآحق. لقد تم تحديد التركيب بالأشعة السينية للفوسفوميسين - ذا ميورA المعطل (سكارزينسكي وآخرون 1998, Skarzynski *et al.*) والذي ينبغي أن يكون عوناً لتصميم - خلفاء لفوسفوميسين. لقد تم الإبلاغ حديثاً عن مثبطات ثيازوليدينون (thiazolidinone inhibitors) ميورB (أندريس وآخرون 2000, Andres *et al.*).



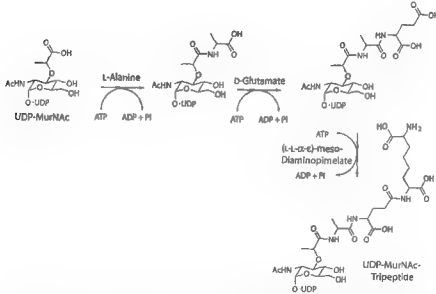
الشكل (٣,٥). (A) العمل المتعاقب لميورA وميورB لتحويل أسيتيلجلوكوسامين UDP-N-acetyl-glucosamine (GlcNAc) إلى UDP-N-MurNAc. (B) تعطيل نشاط ميورA بواسطة المضاد الحيوي فوسفوميسين (fosfomycin).

يقوم ميورB, D, C بتفاعلات مشابهة وتنتمي لنفس العائلة الفاققة (فان هيجينورت 2001a, van Heijenoort) ؛ لأنها تصنع بالتتابع روابط أميد (amid bonds) مضيفةً D-Ala, D-Glu, and L-Ala (Lysine) بدلاً من DAP في بعض البكتيريا الموجبة - لغرام) لسلسلة ميوراميل الناشئة، وينتج عن ذلك UDP ميوراميل بيتيد ثلاثي (الشكل ٣,٦) عند نهاية خطوة ميورB.

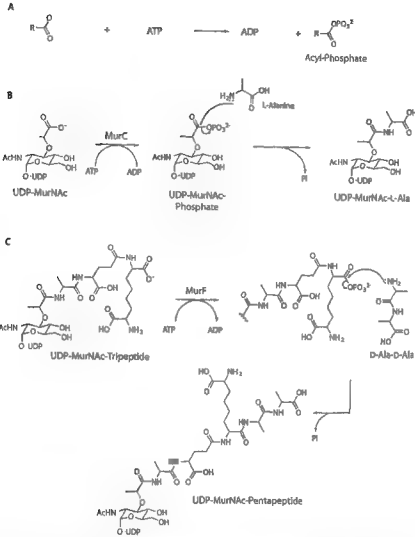
يصنع ميورD رابطة جاما- جلوتاميل الببتيد المتساوية (γ-glutamyl isopeptide bond) بدلاً من رابطة الببتيد القياسية إلى ألفا- كاربوكسيلات D-Glu (α-carboxylate). تعتبر ATP هي المادة المشاركة المنشقة بواسطة كل من هذه

الإنزيمات الثلاث إلى ADP و Pi، مع وسيط من أسيل الفوسفات (acyl phosphates) كما نحات في خطوات تشكيل - الأميد لكل من الأحماض الأمينية الثلاثة (الشكل ٣.٧ A) وعلى سبيل المثال، يعتبر UDP - مورايل الفوسفات هو مختلط لا مائي (anhydride) المركب الوسيط المفترض المتولد في الموقع النشط لميور C وإستولي عليه بواسطة L-Ala (الشكل ٣.٧ B). إن الأشعة السينية لتراكيب العديد من الأحماض الأمينية للإنزيمات الرابطة (الليغازات ligases) متاحة (فان هيجينورت 2001b van Heijenoort) لتتمكن تصميم المثبط - المعتمد على التركيب، ولقد تم وصف مثبطات جزء من المليون (nanomolar inhibitors) لكل من ميور C (مارمور وآخرون 2001 Marmor *et al.*) وميور D (جيجناس وآخرون 1998 Gegnas *et al.*).

يكمل ميور F سلسلة الببتيديل الحماسية (pentapeptidyl chain) بإضافة الببتيد الثنائي D-Ala-D-Ala dipeptide كوحدة، ومرة أخرى يخلق ATP إلى ADP و Pi، ويتضمن افتراضياً UDP-muramyl tripeptidyl-phosphoric anhydride كوسيط (الشكل ٣.٧ C). ويهيئ هذا المرحلة السيتوبلازمية التقليدية المحددة لتجميع طبقة الببتيدوغليكان. تعتبر مثبطات أمينوالكيل فوسفينيت (aminoalkylphosphinate) لميور F ضعيفة (قيمة K<sub>i</sub> من ٧٠٠ إلى ٧٠٠٠ ميكرومتر) ولكن قد تكون نقطة البداية للتحسين (ميلر وآخرون 1998 Miller *et al.*) لأدوية مرشحة أكثر - فعالية. لقد لاحظ تيخمان وآخرون (2001 Teichmann *et al.*) أن كامل مجموعة إنزيمات مسار ميور ربما نشأت بواسطة الإزدواجية - الذاتية للجين (gene self-duplication).



الشكل (٣، ٦). تحويل UDP-MurNAc إلى UDP-MurNAc tripeptide ثلاثي الببتيد بعمل ميور E, D, C.



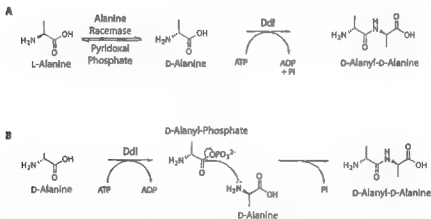
الشكل (٣،٧). (A) جيل الأmino أسيل-فسفات (aminoacyl-phosphate generation). (B) مثال ميور C مع UDP-MurNAc-P كرابطة وسيطة هوجت بواسطة المادة المشاركة من المجموعة الأمينية. L-Ala. (C) UDP-tripeptidyl acyl-P الوسطاء في حفز ميور R: يهاجم بواسطة D-الآئين -D-Ala-D-Ala.

الإنزيمات التي تحول ل-الآئين (L-Ala) إلى D-الآئين-D-الآئين (D-Ala-D-Ala):  
راسيماز (racemase) وD-D-ليغاز (D-D-ligase)

يتوفر للمادة المشاركة D-الآئين-D-Ala-D-Ala لميور F زوج من الإنزيمات التي تعمل بالتتابع: الأول هو راسيماز الآئين alanine racemase، والثاني ليغاز D-الآئين-D-alanyl-D-alanine ligase (الشكل ٣،٨). إنزيم راسيماز (racemase) هو حفّاز معتمد على -بيريدوكسال فوسفات (pyridoxal phosphate-dependent) catalyst الذي يأخذ المستقلب الخلوي الطبيعي L-alanine ليحقق التوازن في شكله ليصنع D-الآئين D-Ala مع ثابت



التوازن ١ (equilibrium constant) (والش 1988, Walsh). يعتبر د-د ليفاز D,D-ligase الإنزيم الخامس في مسار ميور الذي يستهلك ATP لعمل رابطة الأميد، مع الانشقاق إلى ADP وأسيل فوسفات (acyl phosphate)، وفي هذه الحالة يكون بالإمكان الاستحواذ على د-الانيل فوسفات D-alanyl-PO<sub>3</sub> بواسطة د-الانين الثاني (الشكل ٣.٨ B). الأشعة السينية للتركيب متوفرة لكل من راسيماز (racemase) وليفاز (ligase) (فان وآخرون 1994, Fan *et al.*، شاو وآخرون 1997, Shaw *et al.*). يُشيط راسيماز بواسطة فوسفونيت التناظري ل-د-الانين و-الانين-فوسفات PO<sub>3</sub> (قبض) Ala-P جعل البكتيريا مقاومة. يُشط كل من ليفاز د-الانين و-الانين راسيماز (D-Ala-ligase and racemase) بواسطة سيكلوسيرين (cycloserine) (نيوهوس وهامس 1981, Neuhaus and Hammes)، ولكن المعدل العالي للطفرة (mutation) لأجهزة (نظم) النقل لامتصاص (D-Ala-ligase and racemase) (نيوهوس وهامس 1981, Neuhaus and Hammes)، المركب الطبيعي، ولكن فعاليته ضعيفة وغير منتقاة نسبياً، ويحدث سمية. هذه الأمثلة قد تدل على أن جميع الإنزيمات الثمانية المذكورة أعلاه هي من حيث المبدأ أهداف جيدة لتطوير مضادات حيوية جديدة. سوف نرجع لموضوع الإنزيم الرابط د-د-ليفاز (D,D-ligase) عند شرح مقاومة الفانكوميسين في الفصل العاشر وسنلاحظ أن مقاومة الفليكوبيبتيدات (glycopeptides) تتمركز حول خصوصية د-د ليفاز (D,D-ligase).



الشكل (٣.٨). (A) العمل التساهمي لـ راسيماز الانين alanine racemase وليفاز د-الانين د-الانين D-Ala-D-Ala ligase (Ddl) لتوليد د-الانين د-الانين D-Ala-D-Ala. (B) D-Ala-D-Ala الوسيط في حفز Ddl.

الإنزيمات التي توفر د- غلوتامات (D-glutamate) و DAP-*meso* لميور D وميور E

تم حديثاً مراجعة مسارات D-glutamate (فان هييجينورت 2001b, van Heijenoort) ويشمل إما غلوتامات راسيماز (glutamate racemase) المشفرة بواسطة جين ميور I (*mur I* gene) وإما مسار إنزيم الحمض الأميني ناقلة

الأمين (D-amino acid transaminase pathway). في البكتيريا التي تستعمل طريق ميور I, I *mur* هو الجين الأساسي، وقد تم وصف إنزيم راسيماز (racemase) تركيباً وألياً بشكل جيد كراسيميز - مستقل عامل مساعد يعمل بواسطة الآلية - ذات القاعدتين. ولم يتم وصف مثبطات ذات نشاط مفيد مضاد للبكتيريا. في البكتيريا الموجبة - لغرام مثل العصيات (bacilli) التي تستخدم د-الآئين D-alanine كمناح إلى ألفا- كيتوجلوترات ( $\alpha$ -ketoglutarate)، إنزيم (ناقلة الأمين) (ترانساميناز) (transaminase) هو معتمد على بيريدوكسال فوسفات (PLP)، معروف التركيب ولكن لم يتم وصف اتجاهات المضاد البكتيري.

إن التكوين الحيوي لـ *meso*-DAP في البكتيريا السالبة - لغرام هو مسار متعدد الخطوات، ولقد وُصف ألياً وتركيباً بشكل جيد مع الأشعة السينية لتراكيب كل إنزيم في المسار تقريباً (بورن وبلانكارد Born and Blanchard, 1999)، ولكن حتى الآن لم يتم العثور على مثبطات كموامل فعالة مضادة للبكتيريا بواسطة التصميم أو المسح.

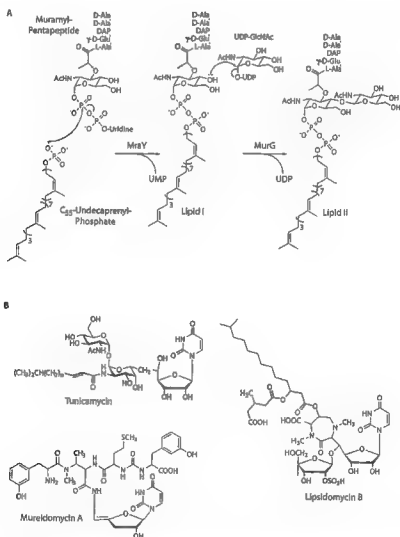
## التصاق الدهن وإضافة السكر الثاني: وسائط الدهن ١ والدهن II

وعمل راموبلائين (ramoplanin) وباسترامين (bacitracin)

إن الأغشية التي ترتبط بالمرحلة الثانية من تجميع ميورين تبدأ مع إنزيم *MraY*، الذي ينقل الببتيد الخموس الميورميل (muramyl pentapeptide) من مثبته الذائب في الماء UDP water soluble anchor إلى مركب غشاء غير عادي  $C_{55}$  undecaprenyl phosphate الموجود على السطح السيتوبلازمي للغشاء. ويهاجم أكسجين الدهون الفوسفاتية lipid phosphate oxygen  $C_{55}$  رابطة بيروفوسفات الموجودة في شطر UDP، يطلق UDP وينتج جسر بيروفوسفات جديد بين الغشاء المرتبط بالدهن  $C_{55}$  وميواريل خماسي الببتيد (الشكل ٣،٩). وبعد هذا وسيط الشحم الأول والمعروف بالدهن I (Lipid I)، يسمى *Mra Y* كذلك ترانسلوكنز (translocase)، ولكن لا يوجد دليل تجريبي مباشر على أن سلسلة ببتيد الخماسية (pentapeptidyl chain) تنتقل عند هذه الخطوة وفي الواقع، التحويل اللاحق للدهن I إلى الدهن II والذي تم شرحه أذناه يستخدم مادة سيتوبلازمية مشتركة، UDP-GlcNAc تتماشى مع الموقع النشط لـ *MraY*، *MurG* المتاح للوجه السيتوبلازمي للغشاء.

المنتجات الطبيعية التي تثبط عمل *MraY* تشمل ميوردوميسينات (mureidomycins A - F) (الشكل ٣،٩ B) (لي و هيكر 1999، Lee and Hecker)، ليوسيدوميسينات (liposidomycins) وتونيكاميسين (tunicamycin)، وجميع مضادات ببتيد البوريديل (uridyl peptide antibiotics) التي يعتقد أنها تتنافس مع مادة UDP ميواريل الببتيد الخماسية ( - UDP muramyl pentapeptide) لأجل *MraY*. وبينما يثبط التونيكاميسين كذلك التكوين الحيوي لـ dolichol-PP-GlcNAc لسويات النواة في التكوين الحيوي للجليكوبروتين فإن ليوسيدوميسين وميوردوميسين هما مختاران لتثبيط *MraY* لبدايات النواة (لي و هيكر 1999، Lee and Hecker). وقد يوفرنا نقاط بداية لتطوير المضادات الحيوية الشبه مُصنّعة.

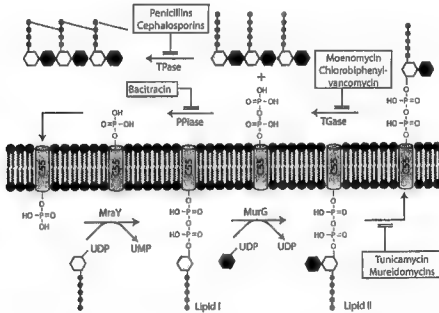
وعند هذه النقطة يضاف السكر الثاني كمادة مشتركة إلى  $C_4-OH$  من مجموعة ميوراميل من الشحم I بواسطة الإنزيم MurG عبر UDP-GlcNAc. والنتج هو شحم - خماسي الببتيد ثنائي السكريل (lipid-disaccharyl pentpeptide) المعروف بالشحم II (الشكل ٣,٩). إن ناقله الغليكوزيل (MurG glycosyltransferase) مرتبط مع الغشاء ولكنه ليس مدفون فيه بعمق، فقد تم تدويره، تنقيته وبلورته (ها وآخرون 2000، Ha *et al.*). ويسبب صعوبة الحصول على كميات من مواد ومنتجات MurG، فإن التقدم الذي تم إحرازه مؤخراً في تكوين كميات معقولة من المواد ونظيراتها قد ساهم في عمل كل من الفحص والكشف عن مضطبات (ها وآخرون 1999، Ha *et al.*، ليو وآخرون 2001، Liu *et al.*، وآخرون 1998، Men *et al.*) وكما ذكر أدناه يُقترح إيجاد آلية لعمل مضاد الغليكوببتيد الدهني رامبولانين (rampolanin).



الشكل (٣,٩). (A) التكوين الإنزيمي لوسائط الدهن I, II في مرحلة الغشاء لتجميع الببتيدوغليكان. (B) مضطبات بيتيد - النيوكليوسيد لمراي.

### النقل والتفاعلات خارج الخلية لاستكمال بناء وتجميع وحدة الببتيدوغليكان

تبعاً لتكوينه بواسطة MurG، ينتقل الدهن II من الوجه الداخلي للغشاء السيتوبلازمي إلى الجبلية / الوجه الخارجي، ولا يتوفر إلى الآن دليل نهائي أو إيضاح عن وجود بروتين ناقل (translocase protein). وبمجرد أن تواجه الخارج وربما تربط على سطح الغشاء بواسطة ذيل الدهن  $C_{55}$ ، تصبح وحدة خماسية الببتيد أحادية السكريل مادة لـ transglycosylases and transpeptidases والتي ترتبط كذلك بالغشاء (الشكل ٣،٣). يوجد العديد من transglycosylases (أربعة معروفة في مجين الإشريكية القولونية واثان في مجينات المكورة العنقودية الذهبية والمكورة العقدية الرئوية) والعديد من transpeptidases. والبعض منها ذات وظيفة ثنائية مع حقول transglycosylase and transpeptidase منفصلة (سبرات 1994، Spratt)، كما أن الأغشية لهذا الفرع تعتبر ذات أهمية لأهداف قتل لمضادات الببتاكتام الحيوية، كما سيلاحظ أدناه. إن أنشطة transglycosylase تغلق رابطة  $\text{muramyl-C}_1\text{-O-PO}_3$  بواسطة مهاجمة 4'-OH للشطر النهائي لـ GlcNAc التابع لسلسلة جليكان الممدودة في طبقة PG على وحدة PG ليتم دمجها (الشكل ٣،٣)، لتطلق  $C_{55}$  بيروفوسفات الدهن ولإعادة تدوير حامل الدهن  $C_{55}$  إلى الوجه السيتوبلازمي للغشاء، يجب أن تحلل وصلة البيروفوسفات التابعة لدهن البيروفوسفات  $C_{55}$  إلى بداية دهن الفوسفات  $C_{55}$  بواسطة إنزيم الفوسفات (phosphatase) المرتبط بالغشاء. ويعد ذلك بالإمكان توفر دهن الفوسفات  $C_{55}$  لجولة أخرى من تكوين الدهن I، التحويل إلى الدهن II، وتغيير الموقع (الشكل ٣،١٠).



الشكل (٣،١٠). دورة حامل الدهن في تجميع الببتيدوغليكان. TGase, transglycosylase; PPase, pyrophosphatase

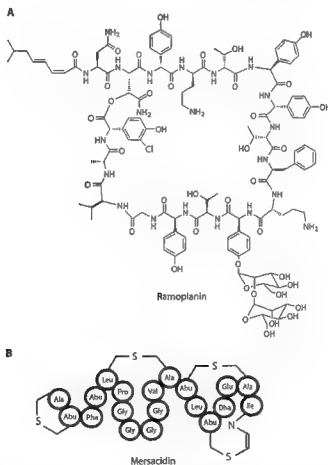
إن دورة ناقل الدهن حساسة عند عدة نقاط للتثبيط بواسطة المضادات الحيوية. ولقد أظهر رامبولانين ليوديبيسيبتيد الدوري (cyclic lipodepsipeptide rampolanin) (الشكل ٣، ١١ A) في الدراسات في المختبر (لو وآخرون 2000, Lo *et al.*) أنه يرتبط مع كل من الدهن I والدهن II. إن تنحية الببتيدات الخماسية - الدهنية - السكرية (lipo-sugar-pentapeptides) بعيداً عن transglycosylases قد يعرقل النضج الإنزيمي اللاحق لوحدات الببتيدوغليكان. إن التركيب الثلاثي الأبعاد للرابسب الدوري غير الريبوسومي (cycl: 17-residue nonribosomal depsipeptide) قد تم تحديده بواسطة تصوير الرنين المغناطيسي النووي (nuclear magnetic resonance imaging) (كورز وجوبا 1996, Kurz and Guba) ويشبه ذلك الخاص بـ اللانتيبيوتيك ببتيد المرساسيدين (lantibiotic peptide mersacidin) (الشكل ٣، ١١ B) (ماك كافرتي وآخرون 1999, McCafferty *et al.*، بارش وآخرون 1997, Parsch *et al.*) والتي تكون كذلك معقد مع الشحم II في ١: ١ حسب العناصر المتفاعلة (stoichiometry)، وبذلك تثبط تكوين الببتيدوغليكان (بروتز وآخرون 1998, Brotz *et al.*). إن التفاصيل الجزيئية لتكوين معقد (mersacidin complexation) مع الشحم II والتي لا تُعرف إلى الآن، بينما تم إحراز تقدم مع رامبولانين (كوديك وأفوس 2002, Cudic and Orvos، كوديك وآخرون 2002). إن المرساسيدين (mersacidin) ومضادات الببتيد الحيوية ذات العلاقة، أكتيجاردن (actigardin) (زيرمان وجونج 1997, Zimmermann and Jung) هي مصنعة بواسطة الريبوسومات كسلائف ببتيدات غير فعالة، والتي من ثم يتم وصلها بعد الترجمة بواسطة أربعة جسور من methyle lanthionine thioether وأخيراً يتحلل البروتين لتطلق إشارة ببتيد (انظر الفصل السادس). الببتيد الناتج مؤلف من كريات (globular)، وعالي القيد كما يعتقد أنه يتفاعل مع شطري سكر - بيروفوسفات والدهن من الدهن II. وقد تم وصف (بروكنك وآخرون، 1999, Breukink *et al.*) مضاد لانتبيوتيك نيسين - ز lantibiotic nisin Z بأنه يكون كذلك مركب معقد مع الدهن II، إضافة أنها مكونة للمسامات. يحد الحجم الكبير (4.6 - 1.8 kDa) لـ lantibiotics مرورها خلال الأغشية الخارجية للكائنات السالبة - لغرام، والتي هي في المقام الأول فعالة في قتل البكتيريا الموجبة - لغرام (ساهل وبيروم 1998, Sahl and Bierbaum).

يعترض مضاد الببتيد المُعشّر (decapeptide) غير الريبوسومي "الباستراسين" (الشكل ٣، ١٢) كذلك دورة حامل الدهن C<sub>55</sub>، عند مرحلة فوسفيت الدهن C<sub>55</sub> (بروتز وآخرون 1998, Brotz *et al.*)، مع احتمال عمل مركب معقد معتمد على الأيون الموجب الشحنة (cation-dependent complexation) بين حلقة ثيازولين عند بقايا ٢ من الباستراسين وجزء الفوسفات من C<sub>55</sub>-O-PO<sub>3</sub>.

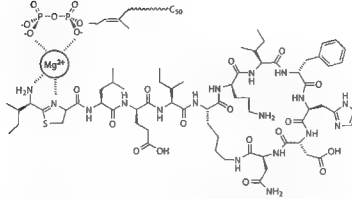
في الحالة الثابتة لا بد أن يكون هناك توازن بين حفّازات بلمرة البوليميرازات (polymerases) الببتيدوغليكان والإنزيمات الحالة للماء (هيدرولاز) (hydrolases)، للسماح بالإدراج المنظم لوحدات جديدة من الببتيدوغليكان إلى الجدران الموجودة أثناء تكبير الببتيدوغليكان كلما تمت البكتيريا والشرع في تكوين الحانجز عند انقسام الخلية

(هولتجي 1998, Holtje). وكما سيلاحظ أدناه، فإن transpeptidases التابعة لجدار الخلية (حافز بلمرة الببتيدوغليكان) (PG polymerases) يتم تأسيسها تساهمياً (covalently acylated) بواسطة مضادات البنسيلين وقد تم تحديد تاريخياً كبروتينات مرتبطة بالبنسيلين (PBP) (penicillin-binding proteins). لقد تم وصف المركبات المعقدة بين البروتينات المرتبطة بالبنسيلين PBP1B عالية الوزن الجزيئي، lytic transglycosylase، MltA، والبروتين الصقالة، MipA من الإشريكية القولونية ويعتقد أنها أجزاء أكبر من ماكينة البروتين المرتبطة بنمو شبكة الببتيدوغليكان وتعرف كذلك بالكتيس (sacculus) (هولتجي 1998, Holtje).

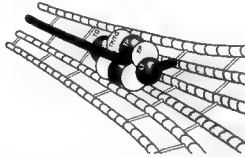
كما يُفترض بأن هذا المركب المعقد يحتوي على PBP2 و PBP3 اللازمين لعمل الببتيد ناقل الببتيداز والببتيداز الداخلي (transpeptidase و endopeptidase) في نمو سلسلة الببتيدوغليكان مع ملحقات لكل من الغشاء الخارجي (MltA) والغشاء الداخلي (PBP1B) (الشكل ٣، ١٣).



الشكل (٣، ١١). تركيب الثان من المضادات الحيوية التي تكون المعقد المتري (stoichiometric complexes) مع الدهن II: (A) راموبلانين، (B) مرساسيدين.



الشكل (٣، ١٢). باسترابين ونموذج لتكوين معقد فوسفات الدهن مع  $C_{50}$  لمرحلة دورة الشحم.

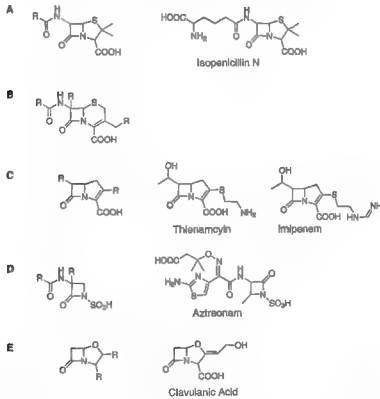


الشكل (٣، ١٣). رسم لمعقد متعدد الإنزيمات المشتمل في السر على طول مقالة الببتيدوغليكان أثناء عملية التطويل (elongation), TG, transglycosylase ترانسفليكوزيلاز، ترانسبيدياز TP, transpeptidase، ثاني الوظيفة ترانسبيدياز / ترانسجليكوسيلاز TP/TG, bifunctional transpeptidase/ transglycosylase، الببتيداز الداخلي EP, endopeptidase، ترانسفليكوسيلاز الخال LT, lytic transglycosylase (مقتبسة بالإذن من هولتجي 1998, Holtje).

### مضادات بيتالكتام الحيوية، بينيمات (penems)، سيفيمات (cephems)، كاربابينيمات (carbapenems)، ووفرة البروتينات المرتبطة بالنسيليّن (PBBs)

من أكثر المضادات الحيوية شهرة والتي تقتل البكتيريا بواسطة تعطيل عملية نقل الببتيد الأساسية والتي ينتج عنها ميكانيكياً ببتيدوغليكان قوي من خلال وصلات تساهمية من خيوط الببتيد هي مضادات بيتالكتام الحيوية (الشكل ٣، ١٤). وتشمل هذه أنواع النسيليّن، حيث الرؤوس الحرة الكيميائية، حلقة بيتالكتام رباعية العضوية تلتصق بنظام حلقة الكبريت خماسية العضوية، ومضادات الكيفالورسبورين، حيث يلتصق بيتالكتام إلى نظام الحلقة المطول (ring-expanded system) التي تحتوي على الكبريت. وتتحول مضادات النسيليّن إنزيمياً إلى مضادات الكيفالوسبورين بواسطة نظام الحلقة المطول، كما سنلاحظ في الفصل الثالث عشر. وكلاهما نواتج استقلابات فطرية ثانوية، حيث تعتبر المكنسية كريسوجينوم (*Penicillium chrysogenum*) كائن منتج مهم للنسيليّن ذا نظام

الحلقتين وكذلك أكرغونيوم كريسوجينوم (*Acronium chrysogenum*) لنواة الكيفالوسبورين (أوسوليفان ويول O'Sullivan and Ball, 1983). يعتبر العقار المضاد للبكتيريا الإيميبينيم (imipenem) بديل طفيف للناتج الطبيعي للكاربابينيم (Carbapenem) (المشبط للبيتيداز الشائي الكلوي)، ثيناميسين (thienamycin) (الشكل ١٤، ٣) ويعطى مع سيلاستاتين (renal dipeptidase) (cilastatin) يُحسن الزمن العمري للكاربابينيم داخل الجسم بواسطة تعطيل التحلل المائي للبيتالكتام. لقد تم عزل الثيناميسين (thienamycin) بداية من بكتيريا المتسلسلة كاتليا (*Streptomyces cattleya*) (كاهان وآخرون 1979 Kahan et al.)، وتم عزل السلسلة الجانبية لحامض الكحول الزيتوني (chain alcohol olivanic) غير المستبدلة (epimeric side acid) من المتسلسلة فلأفوجريسيس (*S. flavogriseus*). إن أبسط كاربابينيم هو منظومة الحلقة الثنائية غير المستبدلة (unsubstituted bis ring system) مع ٢,٣ الرابطة المزدوجة التي تنتج بواسطة البكتيريا إروينيا (*Erwinia*) الممرضة للنبات (انظر الفصل الحادي عشر) (بيكروفت وآخرون 1988 Bycroft et al.). يُعرف كذلك نوعان متغايران من المنتجات الطبيعية من البيتالكتام: مونوباكتام (monobactams) ممثلة بواسطة النوكاردينز (nocardina) والأسيتريونام المصنوع (synthetic aztreonam)، والكلافامات (clavams) مثلًا بالكلافولانيت (clavulanate) والذي لا تعتبر يحد ذاتها مضادات حيوية ولكن تعتمد على آلية المشبطات لإنزيمات البيتالكتاماز (تم شرحها في الفصل الثامن).

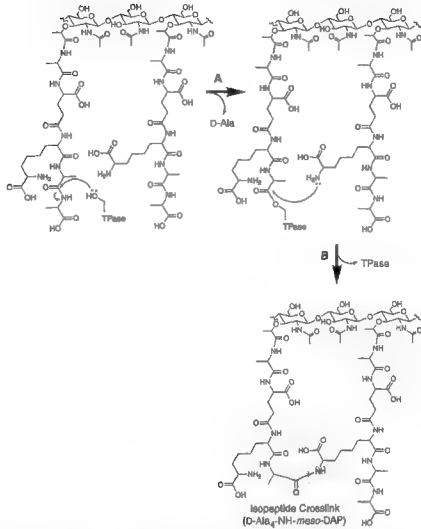


الشكل (١٤، ٣). مضادات البيتالكتام الحيوية: (A) البنسلين، (B) الكيفالوسبورين، (C) كاربابينيم، (D) مونوباكتام، و(E) كلافانات.



ولفهم كيفية إبطال البنسيلين للرباط - التبادلي للببتيدوغليكان للترانسبيبتيدازات (transpeptidases) ويطلب تحليل موجز الآلية الحفّازة يتبعها مشابهاة أشكال ترانسبيبتيداز (transpeptidase isoforms). وكما يدل اسم عائلة الإنزيم فإن خطوات الربط - التبادلي هي نقل الببتيد (transpeptidation) ويدون تكوين شبكة روابط الببتيد. وتكون رابطة مشابهة للببتيد (isopeptide bond) واحدة لايسين د-الآئين أو د-أ ب د-الآئين Lys-D-Ala or DAP-D-Ala وتتفلق رابطة ببتييد واحدة د-الآئين د-الآئين D-Ala-D-Ala في كل دورة محفزة، وتطلق د-الآئين D-Ala حر (الشكل ٣.١٥)، والذي يعاد تدويره إلى السيتوبلازم أو يتأكسد عند الغشاء السيتوبلازمي. لا يوجد مطلب لإدخال الطاقة وبحسب الحقيقة فإن هذه الإنزيمات تعمل خارج الخلية على الوجه السيتوبلازمي للغشاء حيث لا يوجد ATP وغيره من مصادر الطاقة بشكل روتيني. إن جميع ناقلات الببتيد (ترانسبيبتيدازات) (transpeptidases) هي متغايرات للموقع النشط للإنزيم سيرين الحائلة للماء (serine hydrolases) حيث يكون الموقع النشط سيرين أليف النواة (nucleophile) وتعمل سلسلة جانبية أخرى كقاعدة عامة (بوش ومباشري 1998، Bush and Mobashery). يتضمن النصف الأول من التفاعل الهجوم على الموقع النشط سيرين على رابطة الأميد (amide bond) التي تربط د-الآئين مع د-الآئين D-Ala مع D-Ala<sub>4</sub>.

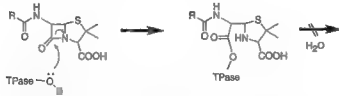
يتكس الهيدرال الرباعي (tetrahedral) المقرب نحو إنزيم acyl-O-Ser مع إطلاق D-Ala<sub>4</sub> كحامض أميني حر. وللأسيل -أو- ترانسبيبتيداز (acyl-O-transpeptidase) الوسيط جزء جليكان ببتييد رباعي (glycan-tetrapeptidyl moiety) يعمل كمجموعة أسيل تثيريد (acyl tethered group) مؤقتة (الشكل ٣.١٥). وفي معظم أفراد عائلة إنزيم سيرين، يرتبط جزئي ماء بشكل منتج في الموقع النشط ويليه نقل الأسيل وإعادة توليد شكل البداية للإنزيم لدورة محفزة أخرى. وهذا هو نهاية لأشكال البروتين المرتبط بالبنسيلين PBP التي تعمل ككربوكسيل الببتيداز (D-D-carboxypeptidases). ولكن في الببتيداز هذا يتم استبعاد الماء ويكون المكون الحركي أليف النواة الوحيد هو مجموعة الأمين لـ DAP of C<sub>6</sub> أو Lys<sub>3</sub> من سلسلة الببتيدوغليكان المجاورة. ويكمل نقل الأسيل إلى أليف النواة هذا في النصف الثاني من التفاعل (الشكل ٣.١٥ B) الدورة الحفّازة، وليعيد توليد الإنزيم الحر بمجرد إدخال رابطة الببتيد المشابهة إلى الشبكة ليقوي الربط - التبادلي. ولقد تم إضاح تراكم الأشعة السينية للعديد من الحقول الحفّازة للترانسبيبتيداز (نوكس وآخرون 1995، Knox *et al.*، نوكس وآخرون 1996، Knox *et al.*، بيرس وآخرون 1996، Pares *et al.*) ودعم هذا المنظر الميكانيكي. في بعض البكتيريا الموجبة لصبغة غرام مثل المكورة العنقودية الذهبية، لا يحدث الربط - التبادلي بين سلاسل الببتيد مباشرة عن طريق e-NH<sub>2</sub> التابعة للسلسلة الجانبية لـ Lys أو DAP ولكن تشمل جسور - ربط الببتيد (peptide cross-bridges). يتم بناء جسر الجليسين الخماسي (pentaglycine bridge) (Gly<sub>5</sub>) هذا على Lys قبل حدوث الربط التبادلي في المكورة العنقودية الذهبية. ومن ثم تتم عملية نقل الببتيد transpeptidation بين مجموعة NH<sub>2</sub> التابعة لـ Gly<sub>5</sub> وكربونيل D-Ala<sub>4</sub> على سلسلة الببتيد المجاورة.



الشكل (٣،١٥). آلية تفاعل نقل الببتيد لببتيدوغليكان لبناء رابطة الببتيد المشابة DAP-D-Ala isopeptide bond: إنزيم الأسيل الوسيط في - نقل الببتيد. (A) تكوين إنزيم أسيل، (B) إنزيم أسيل نوع وأسر الأسيل (acyl enzyme deacylation and capture) بواسطة الأمين ألفا النواة للسلسلة المجاورة.

يقتل الترانسببتيداز نفسه عندما يبدأ الدورة الحفّازة مع مضادات الببتاكتام الحيوية كموا حيث يتم الخلط بينها كسلسلة ببتيدوغليكان تنتهي في D-Ala-D-Ala ولم يتم الربط - التبادلي لها. يتم إضافة الموقع النشط - سيرين إلى كربونيل لكتام ذا الحلقات الأربع النقية (four-ring lactam carbonyl) (الشكل ٣،١٦) ويولد إنزيم أسيل الوسيط حيث تم فتح حلقة الببتاكتام. والآن يحصل حيز للإنزيم في منتصف الدورة المحفزة. إن إنزيمات الترانسببتيداز (transpeptidases) صممت لاستبعاد الماء من وقف وسائط إنزيم الأسيل الطبيعية ويشكل مماثل، فإن التحلل المائي لأشكال إنزيم بنسيلويل (penicilloyl) يتم ببطء شديد (نصف الأعمار من عدة ساعات إلى أيام). ويصبح الإنزيم

ككومة من إنزيم بنسيلويل متكافئاً ويموت بشكل فعال إلى أن يسمح التحلل المائي البطيء لها باسترداد عافيته. وكما سلاحظ في الفصل الثامن بأن أزمة العمر الطويل لتراكيب وسائط إنزيم أسيل المتغيرة هي المسئولة عن قتل البكتيريا بواسطة البيتالاكتام.



الشكل (٣،١٦). رد فعل البنسيلين كمادة إتحار لتراتسيبتيداز البينيدوغليكان.

بواسطة أنواع البنسيلين والكيفالوسبورين المشعة أصبح من السهل عرض أسيل ترانسبيتيداز (acyl ترانسبيتيدازات طويلة العمر الموسمة بشكل تكافئي بواسطة الرحلان الكهربائي لهلام سلفات الصوديوم دوديسيل sodium dodecyl sulfate gel electrophoresis) الذي حلل البروتينات المحرقة (غير الطبيعية) بواسطة الحجم. عادة ما تظهر البكتيريا زمر (رباط) متعددة للبروتينات الموسمة (الشكل ٣،١٧) والتي يوجد منها أربعة في المكورة العقدية الرئوية (*S.pneumoniae*) وتصل إلى ثمانية في الإشريكية القولونية (دينوم وآخرون 1999، Denome *et al.*، 1977، Spratt). وقد أعطى هذا النهج الدليل التاريخي الأول لإنزيمات الترانسبيتيداز المتعددة وأسس المخزون المحفز الكامل لعوائل هذه الإنزيمات. وبعد ذلك كان من الممكن تحديد كل بروتين مرتبط بالبنسيلين (PBP) موسم وأخيراً إثبات نشاطه الإنزيمي بعد إنزيمات البنسيلويل التي تحللت. تتجه البروتينات المرتبطة بالبنسيلين ذات الوزن الجزيئي المنخفض إلى أن تصبح N-acyl-D-Ala-D-Ala carboxypeptidases, hydrolases والتي تولد ينابيع من الببتيد الرباعي (tetrapeptide stems) ذا الربط غير - التبادلي، في حين أن البروتينات ذات الوزن الجزيئي العالي المرتبطة بالبنسيلين (PBP1A, B and C) هي إنزيمات / transglycosylases ترانسبيتيدازات ثنائية الوظيفة (هولتجي 1998، Holtje، شيفر وهولتجي 1999، Schiffer and Holtje). وبإمكان تحليل الطفرات الوراثية أن يحدد أي من البروتينات المرتبطة بالبنسيلين التي تمثل الأهداف الرئيسة للمضادات الحيوية الخاصة وتحدد أدوارها الفسيولوجية في نضج وتجمع الببتيدوغليكان (ومن الأمثلة الحديثة في المكورة العقدية الرئوية، انظر بيك وآخرون 1999، Paik *et al.*). تستطيع مختلف مضادات بيتالاكتام المختلفة حث التغيرات الخاصة في النمط الظاهري، مثال ذلك السلاسل الطويلة والمظاهر المستديرة، التي تعكس العرقلة التفضيلية لمجموعة فرعية (subset) من البروتينات المرتبطة بالبنسيلين (جرينود 2000، Greenwood). أما عن الطفرات لمقاومة البنسيلين فقد تكون كذلك مرتبطة بانخفاض المجاذبة (affinity) لبروتين مرتبط بالبنسيلين محدد لمضاد بيتالاكتام خاص، وقد ساعد هذا إلى حد ما في تحديد الدور الفسيولوجي للبروتينات المرتبطة بالبنسيلين.



الشكل (٣،١٧). البروتينات المرتبطة بالبنسيلين المعدلة في الإشريكية القولونية: رسومات بالتصوير الذاتي الشعاعي (autoradiographs) لبروتينات  $^{14}\text{C}$ -penicilloyl-proteins من الإشريكية القولونية فصلت على هلام الرحلان الكهربائي. (بالإذن من دوريني وآخرون، ١٩٩٦).

في الإشريكية القولونية، عندما تُثبِط كل من الأشكال المشابهة ثنائية الوظيفة للـ *transpeptidases / transglycosylase* PBP1A and 1B isoforms مثال ذلك، بواسطة الأسلة (acylation) مع الكيفالوسبورين كيفالوريدين (cephaloridine) فإن ذلك يؤدي إلى تكوين الكورات (spheroplast) وتحلل السريع. ومن الواضح أنها أهداف رئيسة للمقتل لمضادات البيتالاكتام الحيوية. إن الشيط الإنتقائي لـ PBP2 بواسطة الأسلة بالتركيز المنخفضة بالبنسيلين ميسلينام (mecillinam) ينتج أشكال كروية، ثبات أوزموزي (نضج) نسبي، وتحلل بطيء. كما أن التركيزات المنخفضة لبنسيلين G تأسل PBP3 أولاً مولدة سلاسل من البكتيريا في شكل خيوط. ومن غير الواضح ما إذا كان لـ PBP3 أهمية كبيرة لمضادات البيتالاكتام الحيوية. وعند مستويات عالية من بنسيلين G، يحدث تأسل وتحلل للأشكال المشابهة لـ PBP1. كما أعطى التقدير الكمي من البنسيلين الموسم المرتبط نحو ٢٥٠٠ جزيء من PBP لكل خلية من الإشريكية القولونية (دوريني وآخرون 1996، Daugherty *et al.*)، مع نحو ٢٢٠ جزيء PBP1 و١٢٥ جزيء PBP1B كأهداف قتل رئيسة ونحو ١٥٠٠ (ثلثين من المجموع) PBP4-7 ذا الوزن الجزيئي المنخفض، والتي لا تعتبر أهدافاً للقتل (شولار وبرات 2000، Scholar and Pratt).

كيف تُترجم أسلة وتثبيط البروتينات المرتبطة بالبنسيلين بواسطة مضادات البيتالاكتام الحيوية إلى تدهور لجدار الخلية وموت الخلية بواسطة النشاط غير الملائم أو الزائد للإنزيم المذوّب (hydrolase) قد تم تحت الدراسة لعقود (انظر بيليس 2000، Bayles). أحد الفرضيات الحالية هي أن الإنزيمات المذوّبة (hydrolases) عادة ما تكون مقيدة في وصولها إلى مواد الببتيدوغليكان وأن المضاد الحيوي يشجع التقسيم ناقص القسمة (oligomerization) لبعض البروتينات، مشكلاً قنوات في الغشاء السيتوبلازمي ليسمح بمرور الإنزيمات الحالة للببتيدوغليكان لتصل لموادها. في عداوى العائية (bacteriophage  $\lambda$ ) من الإشريكية القولونية توجد قناة البروتينات مثل الهولينات ومضادات الهولينات (holins and antiholins) (يونج وآخرون 2000، Young *et al.*) التي تتحكم في وقت وصول الإنزيم المذوّب

للمعورين - والمشفّر بالعائية (bacteriophage-encoded murein hydrolases) إلى البتيدوغليكان. وقد يكون هذا مشابهة سابقة لعمل أنظمة البولن - ومضاد البولن ذا العلاقة (holin - antiholin systems) في الكائنات مثال المكورة العنقودية الذهبية (بيليس 2000, Bayles).

#### تعديلات السلسلة الجانبية (side chain modifications) في أنواع البنسيلين

السلسلة الجانبية الطبيعية في الناتج الطبيعي الأولي لمضادات البيتالاكتام الحيوية بعد دوران التكوين الحيوي (biosynthetic cyclization) (الفصل الثالث عشر) هي L-أمينوأيوبيل (L-aminoadipoyl) (الشكل ١٣، ٣). ومن ثم هذه يتم تقسيم فوقي (epimerized) إلى الشكل - د (D-form) ويولد موسع - الحلقة ديوكسيجينيز (ring-expanding dioxygenase) مضادات الكيفالوسبورين مع أولفين (olefin) في الست حلقات ونفس السلسلة الجانبية D-adipoyl يليها hydroxylation وأستلة (acetylation) عند C<sub>6</sub> لتعطي كيفالوسبورين C (أوسوليفان ويول, O'Sullivan and Ball, 1983). كما حاول الكيميائيون الصبالة توسعة نطاق النشاط المضاد للبكتيريا لأنواع البيتالاكتام الأصلية لاكتساب القوة ومكافحة تطوّر المقاومة (شُرح في الفصل الثامن) فقد عملوا الكثير من متغيرات السلسلة الجانبية بواسطة التعديل الشبه - اصطناعي، مستعملين ٦- حامض الأمينوبيسيلانك المنزوع الأسيل أو ٧-أمينوسيفيم 6- deacylated) (aminopenicillanic acid or 7- aminocephem) لإعادة الأسلة (reacylation) مع مجموعة متنوعة من أنواع مختلفة من السلاسل الجانبية، والمسح للحصول على النشاط الأمثل المنشود.

وقد أدى ذلك إلى موجات متعددة من بيتالاكتاماز الشبه مصنّعة على مدى ٥٠ عاماً من الاستعمال السريري، لاحظ شولار وبرات (Scholar and Pratt, 2000) خمس أصناف من البنسيلينات (الشكل ١٨، ٣، A) معتمداً على أنشطة المدى الضيق مقابل المدى الواسع وعن إمكانية وجود نشاط مضاد للزائفات، السلاسل الجانبية المصنّعة الأولى، فينيل أستيل في بنسيلين G وفينووكسي أستيل في بنسيلين V، أنتجت أدوية ضعيفة المدى، ونشطة على سبيل المثال، ضد المكورات المعقّدة والنيسرية، وكانت حساسة لبيتالاكتاماز. استبدال مجموعات أريل غير المستبدلة بمستبدلات ٢,٦ داي ميثوكسي في الميثيسيلين (methicillin)، وجزء نغثيل (naphthyl) في نافسلين (nafcillin)، ومجموعة فينيل أوكسازوايل (phenyloxazoyl) في أوكساسيلين (oxacillin) أنشأ اختلالاً في المواقع النشطة للبيتالاكتاماز وترتب على ذلك مقاومة التحلل. وعلى سبيل المثال، مع البيتالاكتاماز من المكورة العنقودية الذهبية كانت قيم  $K_m$  لتحلل البنسيلين G وبنسيلين V في حدود ٢ - ٤ ميكرومتر، بينما رفعت مجموعات دايميثوكسي في الميثيسيلين قيمة  $K_m$  من ١٠<sup>٤</sup> إلى ٢٨٠٠٠ ميكرومتر (نوفيك 1962, Novick) مما جعل الميثيسيلين نافعاً ضد العدوى المكورائية. وقد نتج مدى نشاط أوسع عندما تم تحويل سلسلة فينيل أسيتيل (phenylacetyl) الجانبية إلى سلسلة جليسيل الفينيل (phenylglycyl chain) عن طريق إدخال مجموعة أمينو (amino group) (أمبسيلين ampicillin) أو عن بواسطة p-OH-phenylglycyl الخاصة بالأموكسيسيلين (amoxicillin) مولدة أنواع بنسيلين فموية وفعالة مع توافر حيوي (bioavailability) جيد.

A

الخاصية		اللقطة
ضعيف الثبات للحامض		١ - ضيق المدى
جيد الثبات للحامض		حساس للبسيليناز (Penicillinase sensitive)
مقاوم للبسيليناز بسبب ضخامة السلسلة الجانبية		٢ - ضيق المدى
		مقاوم للبسيليناز
نشط فمويًا، حساس للبسيليناز، نشط عند المستعمية النزلية والإشريكية القولونية		٣ - أمينوسيلينات واسعة المدى
		أموكسيسيلين
يعطى داخل الوريد، نشط ضد الزائفة الزنجارية		كاربنسيلين
		تيكارسيلين
نشط ضد الزائفة الزنجارية.		بيبراسيلين
زيادة النشاط زائد ضد الأمعائيات		٥ - ممتد المدى

B

اللقطة	
١ - الجيل الأول	  كينالوتين كينازولين
٢ - الجيل الثاني	  كيفامندول سيفوروكسيم سيفوكستين
٣ - الجيل الثالث	     سيفوتاكسيم سيفتريكون سيفتازديم
٤ - الجيل الرابع	  كيتيم

الشكل (١٨، ٣). الأجيال المختلفة من (A) البسيلين و(B) الكيفالوسبورين. (مقتبسة بالإذن من شولار وبرات (Scholar and Pratt, 2000)).

إن أنواع أمينو بنسيلينات (aminopenicillins) هذه نشطة ضد البكتيريا السالبة - لغرام مثل الإشريكية القولونية والمستدمية النزلية (*Haemophilus influenzae*). وللحصول على نشاط مضاد للزائفة يتطلب زيادة الاختراق خلال المسامات التقيدية للأغشية الخارجية للزائفات، وأدى المزيد من التعديلات على السلسلة الجانبية إلى تطوير أدوية مثل تيكارسيلين (ticarcillin) مشتق إستر الكربوكسيل (carboxyl ester derivative) من سلسلة ثيازوليل (thiazolyl) الجانبية والتي تعتبر نشطة من خلال الطريق داخل العضل وداخل الوريد للاستعمال في المستشفى. وأخيراً وفي حالات تجرثم الدم بالزائفة الزنجارية في العدوى المستشفوية (في - المستشفى)، تعتبر مشتقات يوريديو (ureido) من الأمبسيلين مع مجموعة بيرازينو (piperazino group)، بيراسيلين (piperacillin)، بنسيلين ممد - المدى (extended - spectrum) ويعطى عن الطريق الوريدي.

#### تعديلات السلسلة الجانبية في مضادات الكيفالوسبورين: أجيال متعددة

تعتبر مضادات الكيفالوسبورين من أكثر مضادات البيتاكتام التي توصف وأكبر الفئات مبيعاً. وقد أدت التعديلات في السلسلة الجانبية إلى الاختراق التفاضلي خلال المسامات (porins) في تركيب غلاف الخلية إلى توفير خصائص مضادة للبكتيريا وحركات دوائية متنوعة (انظر شولار ويرات 2000, Scholar and Pratt). يدرج الشكل (B ٣, ١٨) أمثلة من الجيل الأول إلى الرابع من مضادات الكيفالوسبورين. ويشمل الأمثلة على المدى - الضيق (الجيل الأول) الأدوية الفموية والوريدية، مع الكيفالوثين (cephalothin) كنموذج. وللأدوية ضيقة - المدى النشاط الأفضل ضد الممرضات الموجبة لغرام، ما عدا المكورة العنقودية الذهبية المقاومة للمثيلين (MRSA)، وهي نشطة ضد بعض الكائنات السالبة - لغرام مثال الإشريكية القولونية وسلالات الكليسيلا (*Klebsiella starins*). تعتبر مضادات الكيفالوسبورين ممتدة - المدى (الجيل الثاني) ممثلة بالأدوية الوريدية مثال سيفوكستين (cefotixin) وكيفامندول (cefamandol) والأدوية الفموية مثال سيفاكلور (cefaclor) ولوراكارياسيف (loracarbazef)، إلى حد ما، أقل فعالية ضد الممرضات الموجبة لغرام ولكن لها مدى - أوسع ضد الممرضات السالبة - لغرام ويشمل ذلك العصوانية الهشة (*Bacteroides fragilis*) والمستدمية النزلية. كما أن زيادة النشاط ضد السالبة - لغرام قد نبع من مجموعة مؤلفة لأفضل اختراق، زيادة المجاذبة للارتباط بأهداف PBP، وخفض النشاط الحفاز نحو التحلل بواسطة إنزيمات بيتالكتاماز. إن السلاسل الجانبية في كل من مضادات الكيفالوسبورين ضيقة - ووممتدة المدى قد بني على الخبرة مع مضادات البنسيلين وتشمل السلاسل الجانبية للثيازوليل (thiazolyl) وفينيل جليسيل (phenylglycyl). إن السلاسل الجانبية لمضادات الكيفالوسبورين واسعة وممتدة - المدى (الجيل الثاني - والثالث) عادة ما قدم زوج من جذوع المقاومة لإنزيمات البيتاكتاماز، إضافة على أنها متبانية في البديل ٣ (3 substituent) على الهيدروكسيل التابع للحلقة السادسة. وفي مضادات الكيفالوسبورين ذات المدى - الأوسع كان النشاط ضد البكتيريا السالبة لغرام

الأملل وامتد ليغطي الزائفة الزنجارية بينما احتفظ بنشاط كاف ضد البكتيريا الموجبة - لغرام (مثال المكورة العنقودية الذهبية الحساسة للمثسليين)، ما عدا السيفتازيديم (cefazidime) (شولار وبرات 2000, Scholar and Pratt) ذلك لأنها تعتبر مفيدة في الوقاية الجراحية. أما جزيء الكيفالوسبورين من الجيل الرابع، سيفيميم (cefepime)، تمت الموافقة على استعماله في الولايات المتحدة، وله خصائص أقرب إلى سيفيمات (cephems) واسع - المدى، ولكن يكتسب مقاومة متزايدة للعديد من البيتاكتامات. السلاسل الجانبية المفضلة على البيتاكتام في الجيل الثالث والرابع من مضادات الكيفالوسبورين هي أمينوثيازول أوكسيمات (aminothiazole oximes)، والبعض منها له كاربوكسيلات مشحونة (charged carboxylates) (مثال، سيفتازيديم و سيفيكسيم) والتي تسمح بالاختراق الجيد خلال مسامات الأغشية الخارجية للبكتيريا السالبة - لغرام بينما تحافظ على المجاذبة العالية ضد أهداف البروتين المرتبط بالبنسيلين PBP. وتختلف بدائل 3 (substituents) على نطاق واسع، وبعضها يحتوي على أمينات (amines) موجبة الشحنة والتي تؤثر كذلك على النشاط الداخلي المضاد للبكتيريا والحركيات الدوائية والتوزيع. وعلى سبيل المثال، العديد منها يخترق السائل المخي الشوكي (cerebrospinal fluid) جيداً عندما تلتهب السحايا (شولار وبرات 2000, Scholar and Pratt) ولذلك فهي فعالة لمعالجة التهاب السحايا.

عموماً، فإن المعالجة الشبه إصطناعية للسلاسل الجانبية للكيفالوسبورين قد أظهرت القدرة المثلى ضد المجموعات الفرعية من الممرضات، وتمثل الدور المهيمن في العديد من العدوى حيث توصف مضادات البيتاكتام الحيوية. وللمضادات الكيفالوسبورين جوانب ممتازة للسلامة، مما أدى إلى استخدامها على نطاق واسع في المستشفيات في كل من مجالات قبل الجراحة وبعد الجراحة. ومن جانب آخر، فإن نجاح مضادات الكيفالوسبورين في نهاية المطاف قد تم انتقائه لأجل البكتيريا ذات محدودات المقاومة (انظر الفصل السابع عشر).

#### كاربابينيمات ومونوبكتامات (carbapenems and monobactams)

هناك نوعان من الكاربابينيمات، إيميبيم وميروبينيم (imipenem and meropenem) تم اعتمادهما للاستخدام السريري في الولايات المتحدة، مع نوع ثالث، إرتابينيم (ertapenem) (MK-0826)، في التطوير السريري مع العزم على استخدامه كجرعة واحدة يومياً (انظر فوكس وآخرون 2001, Fuchs et al.). يعتبر الإيميبيم والميروبينيم ذوابان في الماء، ولهما إتاحة حيوية منخفضة كما أنهما يستخدمان في المستشفى ضد الكائنات العدوائية المقاومة - للمضادات الحيوية، حيث يُظهران نشاطاً واسع - المدى (انظر الجدول ٤.٩ في شولار وبرات 2000, Scholar and Pratt). كما أنهما يميلان لأن يكونا مقاومين لمعظم بيتاكتامازات القائمة على سيرين (serine-based- $\beta$ -lactamases) ولكنهما حساسين للتحلل بواسطة البيتاكتامازات المعدنية (المفلزية) (metallo- $\beta$ -lactamases)، كما تم شرحه في الفصل الثامن. وعلى الرغم من أن إيميبيم مقاوم للتحلل المائي بالإنزيم البكتيري المتوسط بملقة البيتاكتام، إلا أنه في الفقاريات، يحلل



إنزيم الببتيداز منزوع الهيدريد ١ (dehydropeptidase I) اللاكتام في الخلايا الظهارية الكلوية (renal epithelial cells). سيلاستاتين (cilastatin) هو ببتيد منزوع الهيدريد (dehydropeptide) مشابه ذلك الذي يثبط الإنزيم الكلوي المدبب (renal hydrolase) وبذلك يُعطى مع الكاربابينيم. الميريدينيم مع بديل سي-ميثيل (C-methyl substituent) ليس حساساً للإنزيم الكلوي، ولإرتابينيم عمر - نصفي مطول مقارنة بأنواع الكاربابينيم السابقة، ربما بسبب الارتباط ببروتين المصل، كما اقترح استخدامها كجرعة - واحدة يومياً. ولكل من مضادات الكاربابينيم نشاط مفيد ضد الزائفة (ليفرمور Livermore، وودفورد Woodford, 2000).

أحد مضادات مونوبكتام، أزترينوم (aztreonam) (الشكل ٣.١٤)، وهو في الاستخدام السريري للإنسان. كما أن السلسلة الجانبية أسيل (acyl side chain) هي نفسها في سيفتازديم، في حين أن الاكتام له بديل N - سلفونيت (N-sulfonate substituent) على الجانب الآخر. إن مدى النشاط المضاد للبكتيريا (شولار وبرات، Schollar, and Pratt, 2000) هو أنه مفيد فقط ضد الأمراض السالبة - لغرام، مع نشاط جيد ضد الزائفة التجارية. ويبدو أن هدفه PBP3 عند تراكيز منخفضة كما أن له حساسية منخفضة لإنزيمات لكتاميز من مسببات الأمراض السالبة - لغرام. توجد سفالة (هيكل) كلافام (clavam scaffold) في كلافلونيت (clavulanate) (الشكل ٣.١٣) (انظر كذلك الفصل الثالث عشر). ويعتبر كلافلونيت بحد ذاته مادة ضعيفة للبروتين المرتبط بالبنسلين (PBP) ولذلك لا يعتبر مضاداً حيوياً. وفائدته مستمدة من خواصه (كمادة انتحارية) (suicide substrate) مع إنزيمات البيتا-لاكتاماز، المزد من الشرح في الفصل الثامن.

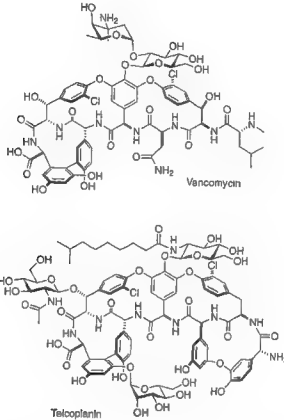
**تعمل مضادات الغليكوببتيد (glycopeptide) الحيوية بواسطة تكوين مركب معقد مع محور الببتيد**

**غير-العرايطية (un-cross-linked peptide) ويعرقل نقل الببتيد**

هناك نوعان من مضادات الغليكوببتيد الحيوية في عائلة الفانكوميسين (vancomycin) تم التصديق عليها في الاستخدام السريري للإنسان، الفانكوميسين بحد ذاته (الشكل ٣.١٩) والتيكوبلانين (teicoplanin)، خارج الولايات المتحدة.

يختلف التيكوبلانين عن الفانكوميسين في ثلاث طرق: (أ) رقم الارتباط بالغليكوزيل (glycosylation) والوضع (placement) متميزين، (ب) للتيكوبلانين سلسلة - طويلة للحمض الدهني البديل في رابطة الأيد (amide linkage) نحو سكر GlcNAc sugar المتصل ب-pheGly<sub>4</sub> و(ج) يختلف هيكل الببتيد السباعي ذا الربط-التبادلي (cross-linked heptapeptide scaffold) عند رواسب ١ و٣ ليسمح لأربعة سلاسل جانبية للربط - التبادلي (١-٣، ٢-٤، ٥-٦) مقارنة بالثلاثة في الفانكوميسين (انظر هوبارد وولش Hubbard and Walsh, 2002، ويليامز وباردسلي Williams and Bardsley, 1999، والمراجع فيها). وكما لوحظ في الفصل الثاني، فليس بإمكان الفانكوميسين

والتيكوبلانيين اختراق المسامات في الغشاء الخارجي للبكتيريا السالبة لغرام وعليه فهما يقتصران على معالجة العدوى المهددة للحياة التي تسببها الممرضات الموجبة - لغرام مثل العدوى بالمكوراتية العقودية، المكوراتية العقدية والمكوراتية المعوية.

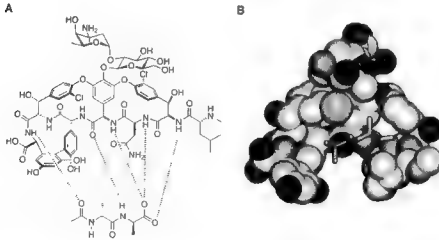


الشكل (٣، ١٩). تراكيب مضادات الغليكوبيبتيد الحيوية، فانكوميسين وتيكوبلانيين.

يعمل كل من هذين المضادين بدون تنشيط الـ transglycosylases أو ترانسبيتيداز transpeptidases بذاته، بل بواسطة تكوين معقد من وحدات مواد الببتيدوغليكسان التي لها أذيان يُشيدل خماسية (pentapeptidyle tails) تنتهي في D-Ala-D-Ala. إن فصل المادة هذا يخلق بشكل فعال الـ نقل الببتيد وذلك يجعل N-acyl-D-Ala-D-Ala المستقبلة غير متواجدة لإنزيمات transpeptidases (الشكل ٣، ٢٠). وفي هذا الاتجاه فإن فصل المادة هو مناظر للفصل المقترح للدهن II بواسطة رامبولانيين (كذلك مضادات غليكوبيبتيد الدهنية الحيوية) (lipoglycopeptide antibiotics) (لو وآخرون 2000, Lo et al.). وقد تم وصف المعقد أولاً بواسطة NMR ومن ثم بواسطة الأشعة السينية (انظر ويليامز وباردسلي 1999, Williams and Bardsley) ليشمل التعريف الجزيئي لنهايات N-acyl-D-Ala-D-Ala من خيط

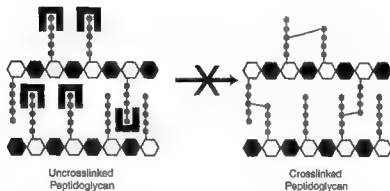
الببتيديل الخامس للببتيدوغليكان (PG-pentapeptidyl strand) التي لم يتم ربطها - تبادلياً بواسطة الجانب السفلي الصلب للفانكوميسين، على شكل - كأس وذلك عن طريق سلسلة من خمس روابط هيدروجين (انظر والش وآخرون 1996b، Walsh *et al.*، ويليامز وبرداسلي 1999، Williams and Bardsley).

يُظهر نموذج ملء الفراغ الإغلاق المحكم الأمثل للملاءمة المضاد الحيوي لهدفه. ويوجد نوعان من وحدات الببتيدوغليكان، حزيئات الدهن II عند الوجه الجلي للغطاء، وكذلك الخيوط التي لم يتم ربطها - تبادلياً في الببتيدوغليكان الملمر (polymerized PG) (الشكل ٣.٢١). وكذلك بإمكان الحصار (الإعاقة) التجسيمي (steric blockade) للنقل الببتيد أن يكون له تأثيرات على إنزيمات ناقلة الغليكوزيل (transglycosylases) وخاصة في البروتينات المرتبطة بالبنسليين، ثنائية الوظيفة، وذات الوزن الجزيئي العالي. لمختلف أعضاء عائلة مضاد غليكوبيبتيد فانكوميسين نزعات متفاوتة للتقسيم الثنائي (dimerize)، وهذا قد يتيح تعزيز الطمع (avidity) نحو عمل مركب معقد (complexation) مع نهايات الببتيدوغليكان (ويليامز 1996، Williams). وسوف نعود لهذه الآليات في الفصل العاشر مع شرح للآليات الجزيئية لمقاومة مضادات الغليكوبيبتيد الحيوية في نوع واحد من مسببات الأمراض الإنتهازية في الإنسان، المكورات المعوية المقاومة للفانكوميسين (VRE) (vancomycin-resistant enterococci). وبالنظر إلى أن الفانكوميسين والبنسليين يعملان على جانبيين مختلفين من الربط - التبادلي للببتيدوغليكان، فيمكن للمرء أن يتوقع، ويعمل، ويلاحظ التأخر للأثار المضادة للبكتيريا بالجمع بينهما.

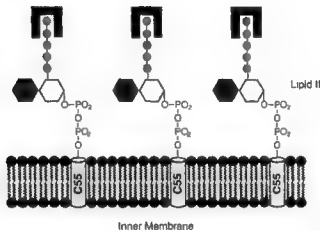


الشكل (٣.٢٠). فصل نهايات PG-D-Ala-D-Ala بواسطة فانكوميسين. (A) خمس روابط (وصلات) بين المضاد الحيوي ونهاية الببتيدوغليكان، (B) نموذج - ملء القضاة للمضاد الحيوي ونهاية الببتيدوغليكان.

A



B



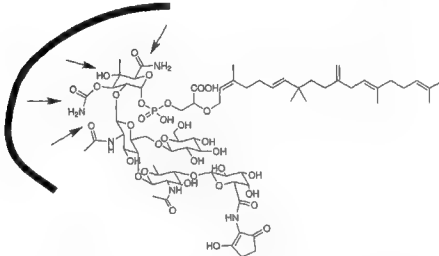
الشكل (٣،٢١). نهايات الببتيدوغليكان تتفاعل مع لانكوميسين وتيكوبلاين: (A) خيوط غير ذات ربط - تبادل على الببتيدوغليكان السابقة الوجود، (B) مادة الدهن II قبل البلمرة إلى ببتيدوغليكان.

موإينوميسين (moenomycin) كمثبط لنشاط transglycosylase

الخاص بالبروتين المرتبط بالنسيليّن PBP1B

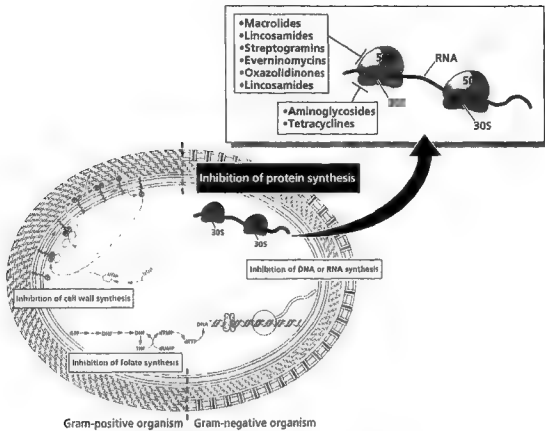
خلافًا للعديد من مضادات البتالاکتام الحيوية التي تثبط نشاط إنزيم الببتيداز للإنزيمات ثنائية الوظيفة transpeptidase / transglycosylase لأنشطة البروتينات المرتبطة بالنسيليّن ذات الوزن الجزيئي العالي، يوجد القليل جداً من منتجات المضادات الحيوية الطبيعية التي تستهدف الموقع النشط لناقة الغليكوزيل transglycosylase. وموإينوميسين هو أحد هذه المركبات (الشكل ٣،٢٢)، الذي يستعمل كحَفَاز للنمو في علف الحيوانات (ريترونيج Ritter and Wong, 2001).

للموإنوميسين ٢٥-كربون دهن كحول، موأيسينول (25-carbon lipid alcohol, moecinol)، مرتبط عبر فوسفوجليسريت (phosphoglycerate) إلى ذيل السكريد الخماسي في رابطة فوسفيت ثنائي الإستر (phosphodiester linkage). وقد قدم تحليل NMR نموذج للتركيب ثلاثي الأبعاد مع مقترح بأن حلقات E و F لشطر الكربوهيدرات تتفاعل كمادة تناظرية، مع هدف إنزيم ناقلة الغليكوزيل (transglycosylase) لإغلاق إضافة وحدات خماسي الببتيد ثنائي السكريل (disaccharyl pentpeptide) في طبقة نمو الببتيدوغليكان. ومن المحتمل أن يكون ذيل موأينوميسين هو الغشاء المثبت الذي يعمل على تركيز المضاد الحيوي مسبقاً عند الجانب الخارجي للغشاء السيتوبلازمي حيث توجد جزيئات إنزيم PBP1. تم صنع مكتبات من العنصر الأساسي ثنائي السكريدات، ولكن دون الاحتفاظ بنشاط مفيد حتى الآن (انظر ريتير وونج، 2001; Ritter, and Wong, 2001).



الشكل (٣،٢٢). نموذج لتفاعل موإنوميسين (moenomycin) مع أهداف إنزيمات transglycosylases (بالإذن من كورز وآخرون

..Kurz et al., 1998



المضادات الحيوية التي تعطل البناء الحيوي البكتيري للبروتين

## المضادات الحيوية التي تعرقل البناء الحيوي البكتيري للبروتين ANTIBIOTICS THAT BLOCK BACTERIAL PROTEIN BIOSYNTHESIS

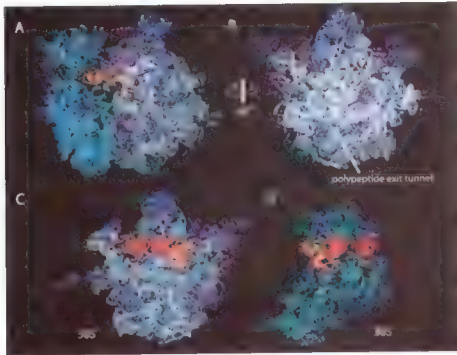
يتناول هذا الفصل مختلف فئات المضادات الحيوية التي تبذل عملها البكتيري المثبط أو البكتيري المبيد بواسطة عرقلة واحد أو أكثر من خطوات البناء الحيوي للبروتين الذي يحدث على الوحدات الفرعية 30S و 50S من ريبوسومات البكتيريا. يُظهر الشكل على الصفحة المقابلة تكبيراً للأجزاء ذات العلاقة للشكل (٢،٢)، مشدداً على أن بعض المضادات الحيوية تعرقل العمليات عند الريبوسوم 50S والبعض الآخر يعمل عند ريبوسوم 50S.

### تركيب الريبوسوم البكتيري ودورة إنزيم الناقلية للببتيديل (peptidyltransferase)

في ضوء مركزية البناء الحيوي للبروتين بالمقارنة بالوظيفة الخلوية والعدد الكبير من الخطوات التي يشملها، بدءاً من تفعيل ٢٠ موحودات (monomers) حامض أميني مولد للبروتين (proteinogenic) بواسطة إنزيم أمينو أسيل tRNA سنتيذازات (aminoacyl-tRNA synthetases)، إلى العديد من الخطوات لبدا السلسلة (chain initiation)، إطالة السلسلة (chain elongation) وإنهاء السلسلة (chain termination) للببتيدات النامية على الريبوسوم، ومن الطبيعي أن عديداً من المنتجات الطبيعية من المضادات الحيوية تستهدف واحدة أو أكثر من خطوات البناء الحيوي للبروتين. وقبل تحليل مواقع وآليات عمل المضادات الحيوية المثبطة للريبوسوم، قُدم ملخص قصير عن الريبوسوم.

في البكتيريا، الريبوسوم عبارة عن وحدتين - فرعيتين من جسيمات البروتين النووي (nucleoprotein subunits)، يشكل الحمض النووي الريبوزي رنا حوالي الثلاثين، بينما يشكل البروتين الثلث، من الوزن الجزيئي ٢٠,٥ - ٢٠,٦ MDa. وتحتوي الوحدة الفرعية الصغيرة، 30S على نحو ٢٠ بروتين و 16S ribosomal Rna على نحو ١٥٠٠٠ ريبونوكليوتيدات (ribonucleotides). وعادة ما يكون للوحدة الفرعية الكبيرة 50S نحو ٣٠ بروتين، ٢٣S rRNA نحو ٢٩٠٠ نيوكليوتيدات، و 5S Rna (١٢٢ نيوكليوتيدات). ويعتبر كل من rRNA الكبيرين المحتويين على حوالي ٤٥٠٠ نيوكليوتيدات سقالة ومحفز (catalyst) لتكوين رابطة الببتيد. وقد تم التليغ عن تركيب الأشعة السينية

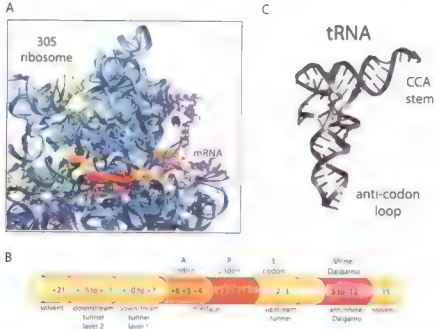
للريبوسوم 70S من البكتيريا *Thermus thermophilus* أليفة الحرارة عند تفريق (resolution) 5.5 Å، كافية لتكشف بناء الوحدات الفرعية لكل من 30S و 50S وتفاعلاتها (يوسوف وآخرون 2001، Yusupov et al.) (اللوحة الملونة ٤.١). تُظهر اللوحة الملونة (A ٤.١) الوحدة الفرعية 30S على اليسار، الوحدة الفرعية 50S على اليمين وأمينو أسيل الحامض الريبي الناقل tRNA (aminoacyl-tRNA) في الوصلة (السطح البيني) (interface). وبين الدوران عند ٩٠° في اللوحة الملونة (B ٤.١) المشهد من خلف الوحدة الفرعية 50S مع تحديد نفق خروج للسلسلة المتعددة الببتيد (polypeptide) الناشئة. وتعطي اللوحة الملونة (C ٤.١) مشهد الوصلة للوحدة الفرعية 50C مع ثلاث tRNAs الذي يحتل المواقع P, A, E (انظر أسفل) وتبين اللوحة الملونة (D ٤.١)، الوصلة للمشهد المطابق للوحدة الفرعية 30S. يكمل تركيب الأشعة - السينية للريبوسوم 70S التراكيب الحديثة للوحدة الفرعية 30S من نفس الكائن (ويمبرلي وآخرون 2000، Wimberly et al.)، المكررة إلى تفريق 3 Å، وتركيب الوحدة الفرعية 50S من هالوكيولاماريسمورتوي (*Haloarcula marismortui*) (نيسين وآخرون 2000، Nissen et al.). لقد فتحت مجموعة التراكيب فصلاً جديداً في دراسة الريبوسومات كآلات مصنعة - للبروتين وكذلك آليات العرقلة بواسطة المضادات الحيوية.



اللوحة الملونة (٤.١). تفاعل الوحدات الفرعية 30S، 50S، وموقع tRNA في الموقع A والموقع P. (A) ريبوسوم الوحدة الفرعية 30S لأليفة الحرارة *Thermophilus* يظهر على اليسار، والوحدة الفرعية 50S على اليمين. (B) دوران ٩٠° من (A) يظهر ظهر الوحدة الفرعية 50S وموقع نفق الخروج لسلسلة عديد الببتيد الناشئة. (C) منظر للوحدة الفرعية 50S من السطح الفاصل للوحدة الفرعية 50S/30S مع tRNA في المواقع P, E, A. (D) منظر للسطح الفاصل للوحدة الفرعية 30S. (بالإذن من يوسوف وآخرون 2001، Yusupov et al.).

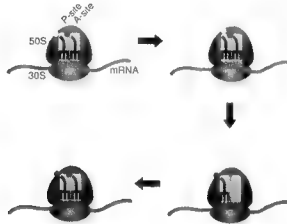


إضافة إلى جزيئات 16S و 23S rRNA التي عناصر تركيبية، تمييز وتحفيز هامة للريبوسوم، هناك جزيئين آخرين من رنا مطلوبين لتكوين البروتين وهما الرنا المرسال mRNA والرنا النقال tRNA. يوفر mRNA القالب الإرشادي، وقد تم حديثاً تصوير مساره عبر الريبوسوم بواسطة تحليل أشعة - إكس (انظر الاستعراضات في كولفر 2001، Culver، و يوسوبوفا وآخرون 2001، Yusupova *et al.*). وتمتد خيوط mRNA خلال اثنين من الأنفاق في الوحدة الفرعية 30S مع امتداد قصير واحد فقط يبرز خلال الوصلة بين الوحدات الفرعية 30S و 50S (اللوحة الملونة ٤.٢ A). يحتوي امتداد mRNA على الستة النيوكليوتيدات التي تكوّن رموزات (codons) أمينوأسيل (A) أمينوأسيل وبيتيد (P) peptidyl (اللوحة الملونة ٤.٢ B)، والنيوكليوتيدات 6+ إلى 1+. يقع راموز موقع الخروج (E) (exit site codon)، عند القواعد 1- إلى 3-، في أعلى تيار النفق فقط أمام الموقع 0- إلى 12-، تسلسل شين-داجرانو (the Shine-Dalgarno sequence) الذي يكون إقتران قاعدي (base pairs) مع مضادّات تتابع شين-داجرانو عند نهاية 3' 16S rRNA ليكون لغة حلزونية مزدوجة (double helix) التي تضع السجل لترجمة mRNA. وتنقل جزيئات tRNA الأحماض الأمينية إلى الريبوزوم وتوفر مضاد الرامزة ثلاثية النيوكليوتيدات (anticodon trinucleotides) إلى واطسون كريك (Watson Crick) لتقرن قاعدياً مع المواقع A و B عند موقع التفاعل 30S-mRNA.



اللوحة الملونة (٤, ٢). (A) تخييط mRNA في الموضع 30S لزوج الرامز، (B) وضع روازم E.P.A لـ mRNA في موقع نزع الرامز، (C) النصميم الهندسي لـ tRNA يوضح عروة مضاد - الرامز التي تعرف الرواظم على mRNA وذيل CCA حيث يتم تشكيل الحمض الأميني تساهيياً ونشطه. (بالإذن من كولفر (٢٠٠١)).

تتمد النهاية الأمينية المؤسلة (aminoacylated end A, B) لـ mRNAs بعيداً عن الوحدة الفرعية 30S إلى الوحدة الفرعية 50S عند الحقل V لـ 23S Rna. وتنقل سلسلة الببتيد إلى أمينو أسيل tRNA في الموقع A بواسطة نشاط إنزيم ببتيديل ترانسفيراز (ناقلة الببتيد) في كل حلقة تطويل - ببتيد - سلسلة للريبوسوم. ويشتق نشاط الببتيديل ترانسفيراز (ناقلة الببتيد) من نشاط ريبوزيم الحفاز من هذا الجزء من 23S Rna وبدون مساعدة ظاهرة من البروتينات (انظر نيسين وآخرون 2000, Nissen *et al.*) (الشكل ٤, ١).



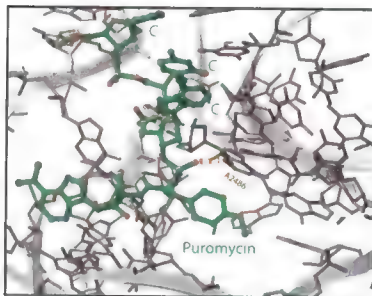
الشكل (٤, ١). رسم لتكوين رابطة الببتيد عند الريبوسوم.

في كل حلقة حفازة للتطويل، تشغل الوحدة الفرعية 30S كوحدة مزيلة للراموز لتنتقي الأمينو أسيل المناسب مع مضاد الراموز التابع لها والتي سوف تناسب موقع A للراموز. وبمجرد أن يُرسخ أمينو أسيل-tRNA الصحيح في الموقع A فإن شطر أمينو أسيل يُشكل 75 Å بعيداً عند نهاية CCA للـ tRNA الموجه نحو البنية المنتجة لتهاجم سلسلة ببتيديل المجاورة، وبمجد ذاتها هي موجهة نحو نهاية CCA التابعة للـ tRNA الخاص بها، ولتطيل سلسلة الببتيد النامية كلما انتقلت نحو مهاجمة مجموعة أمينو أسيل. وعند هذه الوصلة تعتبر هذه فارغة، ولتروغ tRNA منزوع الأسيل في الموقع P (الشكل ٤, ١) وترتبط بمجموعة الببتيديل مع tRNA الذي لا يزال مرسخاً في الموقع A. ولدورة التطويل التالية، يتحرك tRNA منزوع الأسيل إلى الموقع E، ويعاد موضع ببتيديل -tRNA نحو الموقع P، ويصبح الموقع A مفتوحاً لإحضار أمينو أسيل-tRNA التالية ليتم نزع الرامز بواسطة معقد 30S-mRNA complex. إن تناغم حركة mRNA لتقديم رامز ثلاثي جديد عند الموقع A عند السطح الفاصل بين 30S و50S ليسمح بنزع الرامز، وللثلاثة tRNA للتحرك بين المواقع P, E, وA لم يتم فهمه إلى الآن.

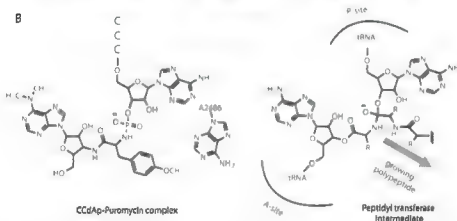
لقد تم تحديد مركز ببتيديل ترانسفيراز (ناقلة الببتيد) في الوحدة الفرعية 50S في الشطر V من 30S tRNA بواسطة البلور المشترك (cocrySTALLIZATION) لنظير حالة التحول، ببتيديل بيوروميسين فوقوناميديت (peptidyl puromycin)

(phosphonamidate) (اللوحة الملوّنة ٤,٣) والذي يشبه التركيب الهندسي الرباعي للوسيط في العملية الحفّازة للبيتيديل ترانسفيراز (ناقلة البيتيديل) رنا. وهذا يسمح بتعريف موقع A وموقع P لنيوكليوتيدات tRNA ذات العلاقة مع للنظير الرابط وقد تم اقتراح آليات لوظائف قواعد رنا الفردية في خطوات تكوين رابطة البيتيد (نيسين وآخرون (Nissen *et al.*, 2000). وقد ساهم كذلك لتعريف نفق خروج عديد البيتيد، بطول حوالي ١٠٠ Å، الذي يسمح بمرور سلسلة عديد البيتيد الناشئة خلال الوحدة الفرعية 50S إلى الخارج (اللوحة الملوّنة ٤,٤).

A



B



اللوحة الملوّنة (٤,٣). مركز بيتيديل ترانسفيراز (ناقلة البيتيديل) على الوحدة الفرعية الريبوسومية 50S. (A) توسيع مقعد بيوروميسين - CCdAp (CCdAp-puromycin complex) عند مركز بيتيديل ترانسفيراز (ناقلة البيتيديل) للوحدة الفرعية 50S، (B) إرتماس لثاني- الأبعاد لتفاعل CCdAp-puromycin مع A2486 والهندسة المشابهة للوسيط الرباعي أثناء تكوين رابطة البيتيد على نفس الموضع على الريبوسوم.

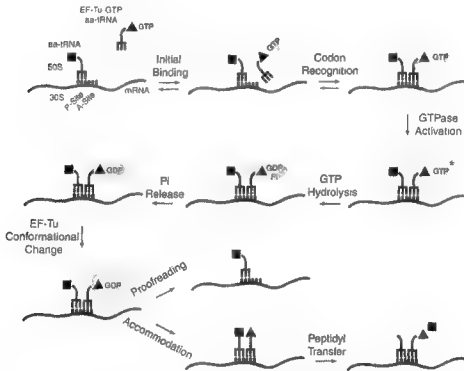


اللوحة الملونة (٤، ٤). لفق خروج عديد الببتيد خلال الريبوسوم 50S.

ومن الواضح أن معدل الخطأ المنخفض الملاحظ في تكوين البروتين، حوالي خطأ واحد في ١٠<sup>٤</sup> دورات تطويل، ويحتاج قراءة بيئة وتنقيح للمحافظة على هذه الأمانة العالية أثناء اندماج الحمض الأميني في الريبوسوم (للمراجعة انظر رودنيا وونترمر 2001 Rodnina and Wintermeyer). وقد تراكمت الأدلة عبر السنين حول التمييز متعدد الخطوات بين أمينو أسيل-tRNA المتجانس (cognate aminoacyl-tRNA) في بحر من مجموعة أمينو أسيل-tRNA غير المتجانسة. وأحضر أمينو أسيل tRNAs إلى الريبوسوم في معقد مع بروتين شابرون (chaperone protein EF-Tu) الذي يعتبر إنزيم GTPase كامن. وبعد الربط الأولي مع الريبوسوم، يستطيع أمينو أسيل-tRNA إما أن يتفكك أو أن يتقدم ليتقترن قاعدياً في مقابلة الرامزة - تفاعل رامزة الحلز (anticodon-codon helix interaction)، مؤدياً إلى إعادة توجيه ومعقد طويل الأجل (الشكل ٤.٢). وعند هذه النقطة يتم تفعيل نشاط GTPase of EF-Tu ويرجح بواسطة تغيير تركيبه، ويحدث إنفلاق GDP ليربط GDP وP<sub>i</sub>، يتبعه إطلاق الناتج P<sub>i</sub> ويظل GDP مرتبطاً ليعزز البنية النوعية لـ EF-Tu.GDP. وعندما يتم حدوث تكوين الرباط في مركز الوحدة الفرعية 50S، يتم إطلاق tRNA منزوع الأسيل من الموقع A بواسطة الشكل GDP التابع لـ EF-Tu. ويرجح أن التراكيب الموضعية لـ tRNA في الوحدة الفرعية 30S والوحدة الفرعية 50S تطلق إشارات بأن نزع رامن المعلومات قد تم وأن نهاية أمينو- أسيل التابعة لأمينيل-tRNA يجب أن توجه إنتاجياً لتكوين رابط الببتيد.

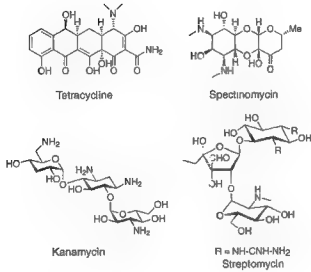
قد تقطع المضادات الحيوية التوقيت والنوعية لأي من هذه الخطوات، ومن المحتمل أن مثل هذه التقطيعات تبطئ النمو و/ أو أن تكون قاتلة للبكتيريا. يظهر الشكل (٤.٣) أمثلة للأصناف الكبرى من المضادات الحيوية المستهدفة للوحدة الفرعية 30S سبكتينومييسين (spectinomycin) الأمينوغليكوسيدات كاناميسين (kanamycin) وستربتومييسين (streptomycin)، تتراسيكلين (tetracycline) أو للوحدة الفرعية 50S (كلنداميسين) (clindamycin)، كلورامفينيكول (chloramphenicol)، لينزوليد (linezolid) والميكروليدات مثل إريثروميسين (erythromycin)،

كلاريثروميسين (clarithromycin)، أزيثروميسين (azithromycin) وتيلوسين (tylosin). ولقد ظهرت في الستينيات الماضيتين تراكيب المضادات الحيوية المرتبطة بمواقع أهداف tRNA في الوحدة الفرعية 30S والوحدة الفرعية 50S (مثل، كارتر وآخرون 2000، Carter *et al*، تشونزن وآخرون 2001، Schunzen *et al*). وعلى سبيل المثال، فإن التبلور المشترك (cocrystallization) للمضادات الحيوية الثلاثة باروموميسين (paromomycin)، سبكتنوميسين وسترتوميسين مع أهداف الوحدات الفرعية 30S، دل على تغيير التوازنات الرقيقة بين الحالات البنيوية ل-rRNA، مؤدية إلى عرقلة نقل (translocation) (سبكتنوميسين)، نزع الرامز (باروموميسين)، والدقة الترجمية (translation) (سترتوميسين) (كارتر وآخرون 2000، Carter *et al*). ومن المحتمل أن يكون هذا العمل مبشراً للعديد من الدراسات القادمة والتي ستسلط الضوء على عمل المضادات الحيوية في واحد أو أكثر من الخطوات التأسيسية في وظيفة الريبوسوم.

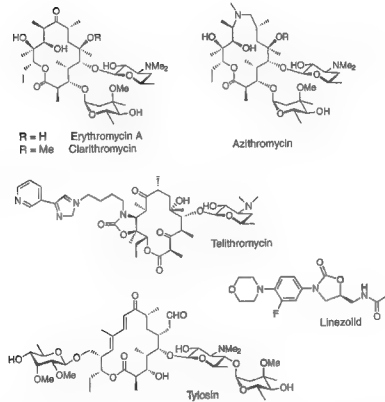


الشكل (٤،٢). الخطوات في الربط، تمييز الرامز، تفعيل GTPase، برهنة القراءة، بيتايدل ترانسفيراز (ناقلة الببتيد) في تكوين رابطة الببتيد (معدلة من رودنيا ووينترمر 2001، Rodnina and Wintermeyer)

A



B



الشكل (٤, ٣). تراكييب بعض المضادات الحيوية التي تعمل عند (A) الوحدة الفرعية 30S أو (B) الوحدة الفرعية 50S للريبوسوم البكتيري.

### صنف الإريثروميسين من مضادات الميكروبيد الحيوي

يعتبر الإريثروميسين العضوية-١٤ من الاكتون كبير الحلقة (14-membered macrocyclic lactone) وأنتج بواسطة المتسلسلة سكروبوليسبور إريثري (*Streptomyces Saccharopolyspora erythraea*). ويظهر أجليكون (aglycone) من خط تجمع المطع (المؤثر النوعي) الإنزيم التركيبي عديد الكيتيد (modular polyketide synthase assembly line)، كما سيتم فحصه في الفصل الثاني عشر، ومن ثم أكسجته ثنائياً (bis oxygenated) وريطه بالغليكوزيل (bis glycosylated) لإنتاج المضاد الحيوي الفعال، العضوية-١٥ شبه الإصطناعي (أزيتروميسين)، والعضوية-١٦ الميكروبيدات المنتجة طبيعياً مثل تيلوسين الفعالة كذلك (الشكل ٤.٣). يعد التصميم الهندسي للماكرولاكتون والتفاعلات مع السكريات المفتاح المحدد للربط والنوعية في التفاعلات مع 23S rRNA في الموقع ٦- نيوكليوتيد ٢٠٦٢-٢٠٥٨. وتعرقل ربط الإريثروميسين ترجمة عديد الببتيد مع الأثر النهائي إطلاق وسائط ببتيد-تيل (peptidyl-Tma) قبل الألوان بواسطة عرقلة الوصول إلى نفق خروج الببتيد المطول (بان وآخرون Ban et al., 2000، تشونزن وآخرون Schunzen et al., 2001). ويعرقل الدواء كذلك تجمع الوحدات الفرعية 50S والأرجع من خلال هذا التفاعل مع 23S rRNA. يبلغ ٥٠٪ من التركيز المثبط (IC<sub>50</sub>) لمنع الترجمة في خلايا المكونة العنقودية الذهبية حوالي 0.2 µg/ml (جولدمان وآخرون Goldman et al., 1999) ويبلغ K<sub>a</sub> للقياس الكيميائي (stoichiometric) للربط للعنصر مع مكونات 23S rRNA للوحدة الفرعية 50S حوالي 1.1nM. وقد أثبت الإريثروميسين أنه آمن وفعال في البالغين والأطفال وقد تم استعماله في جميع حالات المرضى المنومين والمرضى غير المنومين. الميكروبيدات ممتدة - المدى مثل أزيتروميسين وكلازيتروميسين (الشكل ٤.٣) ملئت مكاناً علاجياً مهماً لمعالجة العدوى التنفسية (تشولار ويرات 2000, Scholar, and Pratt). وتعتبر جزيئات شبه اصطناعية - كلازيتروميسين مع ميثوكسي (methoxy) عند C<sub>6</sub> وأزيتروميسين مع العضوية-١٥ ميكروبيد الممتد والنيتروجين الذي تم إدخاله والذي له بنية ميكروبيد محولة.

وللأزيتروميسين والكلازيتروميسين قيم IC<sub>50</sub> تكاد تكون مكافئة للإريثروميسين (انظر تشامبينس Champness, 2000، للمراجعة)، وتسبب تهيج أقل للجهاز المعدي المعوي، وأكثر ثبات لتركيز أيون الهيدروجين الحامض (PH) للمعدة، ونفاذ أفضل للأنسجة، وله نصف - أعمار أطول يسمح بجرعات مرة واحدة أو اثنين في اليوم. تتطلب الميكروبيدات الضيقة - والممتدة المدى سكر كالدنيوس (caldinose sugar) لفعالية المضاد الحيوي.

مضادات الميكروبيد واسعة - المدى ذات 3-OH تتأكسد إلى كيتون، لتزيل موضع التصاق سكر كالدنيوس، وتعرف بكتيوليدات (ketolides) (مثال، تليثروميسين telithromycin) (برونسون وبارت 2000a, Brosnson and Barrett)، وهو في المراحل الأخيرة من التطور السريري، وقد تمت المصادقة عليه في الولايات المتحدة الأمريكية. كما وأظهرت هذه الكيتيوليدات حوالي ١- log تحسن في قيمة IC<sub>50</sub> (0.02 to 0.04 µg/ml) (كابوبيانو وآخرون Capobianco et al.,

2000، دوثويت وآخرون (Douthwaite *et al.*, 2000) وهي لا تحفز ظهور الجين المقاوم الخاص بأمثلة rRNA (انظر الفصل العاشر). لقد أصبحت الأجيال المتتابعة من الميكروبيدات الأكثر ملاءمة؛ بسبب تغيير الخواص وتشمل الثبات للحامض في المعدة والفعالية ضد الممرضات المقاومة للميكروبيد (الفصلان التاسع والعاشر). كما يجب أن تأخذ جميع هذه الأجيال فائدة الفروقات في البناء الهندسي في 23S RNA للريبوسومات البكتيرية مقارنة بسويات النواة لتسمح بالانتقائية لقتل البكتيريا. ويسلط التحليل الحديث بالأشعة السينية لمضادات الميكروبيد الحيوية المرتبطة بالريبوسومات (انظر أسفل) بعض الضوء على هذه الانتقائية. وقد تمت دراسة الأعضاء من هذا الصنف من الأدوية بشكل مكثف كأهداف لجيل متنوع بالتكوين الحيوي الاتحادي، كما سيتم شرحه في الفصل الخامس عشر.

التيلوسين، هو ذا عضوية ١٦ ميكروبيد وله ٢ كربونات ماكرولاكتون أكبر من تلك التي في الإريثروميسين وكذلك سكريات مميزة، هدفها rRNA 23S عند نفس الموقع الأساسي ويستعمل في الطب البيطري. قد التحليل الحركي لربط كل من تيلوسين وإريثروميسين بالريبوسوم معقد تصادمي أولي (collisonal complex) تبعه خطوة تزامرية (isomerization step) بطيئة نتج عنها ربط محكم وتفكك بطيء. وسيكون الرجوع من المعقد المتزامن (isomerized RI\*complex) بطيء جداً. وللتيلوسين كمثبط I، يتراكم معقد ريبوسوم I\* على التصادمي RI بقدر 600/1. ريبوسوم I +  $\leftrightarrow$  ريبوسوم I\*  $\leftrightarrow$  ريبوسوم I\*.

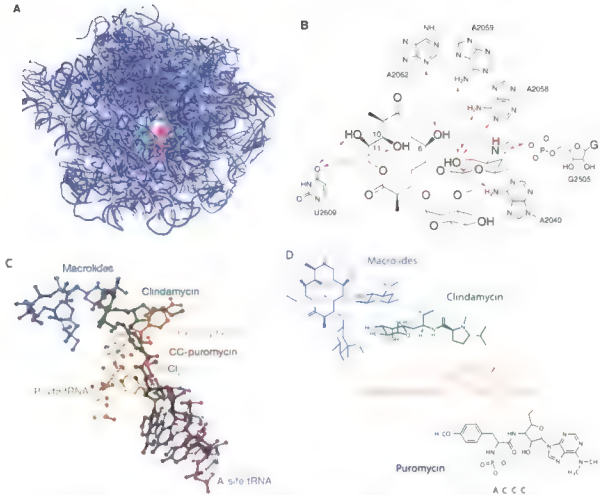
ولمعقد ريبوسوم - إريثروميسين\* معدل يساوي ١/١٠، مشيراً إلى تثبيط أطول أجلاً لمعقد تيلوسين (دينوس Dinsos) (وكلباكسيس 2000, Kalpaxis). وفي المقاييس المباشرة لنشاط الإنزيم الحفّاز الناقل للبيتيداز (بيتيديل ترانسفيراز) (ناقلة البيتيديل)، لا يبطئ الإريثروميسين الفعالية بينما يثبطها التيلوسين. كما دل تحليل الأثر أن الإريثروميسين يرتبط بمحور مركز بيتيديل ترانسفيراز (ناقلة البيتيديل) في 50S ويعرفل مرور سلسلة بيتيديل الناشئة إلى نفق الخروج من خلال الوحدة الفرعية 50S. وقد تمت حالياً المصادقة على ذلك بواسطة تحليل الأشعة السينية للميكروبيدات المرتبطة ب rRNA 23S في الوحدة الفرعية 50S للبكتيريا دينوكوكس راديوديورانس (*radiodurans* *Deinococcus*) (تشولزن وآخرون 2001, Schlunzen *et al.*).

الإريثروميسين ومضادات الميكروبيد العضوية-١٤ والكلارثروميسين وروكسيثروميسين (roxithromycin) ممتدة المدى، ترتبط جميعها عند المدخل إلى نفق عديد البيتيد المصدر (اللوحة الملونة ٤.٥ A)، تسمح بناء حوالي ستة إلى ثمانية من الرنا الناقل tRNA - قليل البيتيد-الرنا الناقل (oligo peptide -tRNA) قبل عرقلة عملية الإطالة وإنهاءها قبل الألوان. للميكروبيدات القصيرة والممتدة ثلاثة عناصر تركيبية - ماكرولاكتون، ديسوسامين (desosamine)، وسكريات كالدينوس، وهذه التجميعات تصنع إلى ٧ روابط هيدروجين مع rRNA 23S. ولا يوجد بروتين ريبوسومي في الاحتكاك الجزئي مع مضادات الميكروبيد الحيوية. يصنع 2'-OH التابع للديسوسامين روابط هيدروجين إلى N١ وN٥ من A2058 في rRNA 23S (اللوحة الملونة ٤.٥ B)، مما يفسر الحاجة الأساسية لـ A2058 لتصبح حساسة



للميكروليدات (فيستر ودوثوايت 2001). في سويات النواة، يتغير  $A_{2058}$  إلى  $G_{2058}$  مما يفسر على الأقل جزءاً من انتقاء الهدف لصنف أدوية الإريثروميسين للريبوسومات البكتيرية (تشولنز وآخرون Schlunzen *et al.*, 2001). وقد تصنع البدائل 6-OH, 11-OH and 12-OH على الماكرولاكتون أيضاً روابط هيدروجين ملائمة مع 23S RNA لتوجيه المضاد الحيوي. ولا تصنع حلقة كالدينوس تفاعلات مهمة وتُستبدل في الكيتوليدات واسعة - المدى مع استرجاع وحتى اكتساب الفعالية.

وعلى الرغم من أن الميكروليدات لا تعرقل خطوة تكوين - رابطة الببتيد مباشرة عند مركز بيتيديل ترانسفيراز (ناقلة الببتيد) للوحدة الفرعية 50S، إلا أنه من المعروف أنها تنافسية مع مضادات لينكوسميد (lincosamide antibiotics) التي تعتبر مشبطات مباشرة لببتيديل ترانسفيراز (ناقلة الببتيد). وفي الحقيقة فإن الطفرة الواحدة عند  $A_{2058}$  لأي من القواعد الثلاث الأخرى (G, C or U) تحفز مقاومة نشوء ثلاثية لأعضاء عائلة الميكروليدات، اللينكوسميدات، وستربتوجرامين ب (streptogramin B) (مقاومة  $MLS_B$ ) مما يشير إلى تعارض فيزيائي (للمرجعة، انظر فيستر ودوثوايت 2001). ولقد قدم تشولنز وآخرون Schlunzen *et al.*, 2001 إثبات مباشر بواسطة التركيب البلوري المشارك للمضاد اللينكوسميد كلنداميسين (clindamycin) (اللوحة الملونة ٤.٥ C و ٤.٥ D)، حيث مجموعات  $OH^-$  و  $3'$  لسطر السكر للمضاد الحيوي، يكون روابط هيدروجين مع نفس المجموعة الأمينية خارجية الحلقة (exo-cyclic  $N_6$  amino group of  $A_{2058}$ ). والزيادة برط كلنداميسين وربط الإريثروميسين أظهر تعارضاً فيزيائياً جزئياً (اللوحة الملونة ٤.٥ C). ولقد عرف الكلنداميسين بشكل منفصل أنه يتفاعل مع كل من الموقع A والموقع P لمركز بيتيديل ترانسفيراز (ناقلة الببتيد)، وهكذا فإن البناء النموذجي للنهايات  $3'$  التابعة لـ A-and P- tRNA تنتج المركب في اللوحة الملونة ٤.٥ C التي تظهر وضع كلنداميسين وإريثروميسين بالنسبة لـ tRNA الثلاثين اللذان يضعان الببتيد المانح والأمينو - أسيل المستقبل في تكوين روابط الببتيد والتي تعتبر لب التفاعل للريبوسوم. وأخيراً، فإن مضاد الكلورامفينيكول (chloramphenicol) الآن تحت الاستعمال المحظور بسبب قضايا تتعلق بالسمية، وقد تم بلورته بالمشاركة مع الوحدة الفرعية 50S لبكتيريا دينوكوكس راديودورانس بواسطة نفس فريق البحث هذا (تشولنز وآخرون Schlunzen *et al.*, 2001). ومن المعروف بأن الكلورامفينيكول يعرقل تفاعل أمينو-أسيل tRNA- مع الموقع A في مركز بيتيديل ترانسفيراز (ناقلة الببتيد) وهذا بالفعل الموقع حيث يرتبط الكلورامفينيكول. إن موضع المضادات الخمس في تجويف مركز بيتيديل ترانسفيراز (ناقلة الببتيد) للوحدة الفرعية 50S للريبوسوم البكتيري سوف بالتأكيد يساعد الجهود الجديدة في التصميم المنطقي للمضادات البكتيرية التي تستهدف تكوين البروتين.

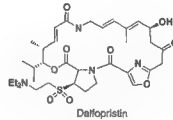
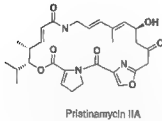
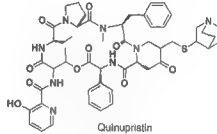
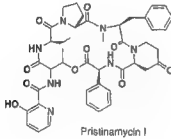


اللوحة الملونة (٤،٥). طريقة عمل مضادات الميكروبيد الحيوية: (A) ربط الميكروبيد عند 50S عديد بيتيد وفق الخروج، (B) التفاعل مع قواعد 23S RNA، (C) التعارض مع مواقع الربط للكلنداميسين والكلورامفينيكول وكذلك الموقع A- والموقع P- لـ tRNAs، (D) اكتشاف الجزيئات التي تتعارض في اللوحة جـ. في المقايضة المباشرة الفعالية بيتيديل ترانسفيراز، لا يعرقل الإزبروميسين الفعالية. (بالإذن من تشولتون وآخرون 2001). (Schlunzen *et al.*, 2001).

### التجميعات الحاذرة غير الريبوسومية للبيتيد: سينرسييد (Synercid)

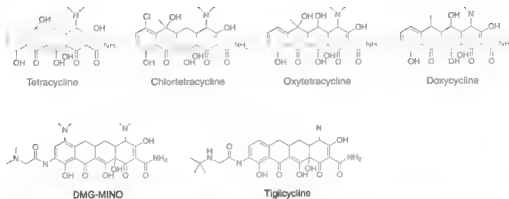
تصنع أنواع كبيرة من التسلسلات والشعاعيات (streptomycetes and actinoplanes) (تشامبنيس 2000) (Champness, 2000) زوج من المضادات الحيوية من عائلة فيرجينياميسين (virginiamycin)، (تدعى كذلك برسيناميسين وستربتوميسين) (pristinamycin and streptomycin)، وتسمى مجموعة A ومجموعة B (بارير وآخرون 1998) (Bartiere *et al.*, 1998)، أو، بدلا عن ذلك مجموعة I ومجموعة II، التي تعمل تآزرياً لتعرقل ترجمة عديد البيتيد بواسطة الوحدة الفرعية 50S

للريوسوم البكتيري عند المواقع 23S rRNA لتعارض جزئياً تلك المستهدفة بواسطة الميكروليدات. وسوف نستعمل عبارة برستيناميسين للزوج العلاجي الذي تمت المصادقة عليه بإسم سينيرسيد (ليفرمور 2000, Livermore) (الشكل ٤,٤). وعبارة الجينيس البديل فيرجينياميسين في الفصل الحادي عشر عند مناقشة قانون توقيت تصنيع المضاد الحيوي. تعتبر المجموعة I لآكتونات بيتيد حلقة غير الريبوسومية مع سلسلة الكحول الجانبية *N*-aryl-Thr المتصلة بكاربونيل pheGly<sub>٥</sub> والمجموعة II برستيناميسين هي هجين عديد الكيتيد (polyketide) / عديد الببتيد (polypeptide) مع شطر أوكساسول- برو (oxazole-pro) (مشتق من طليعة ser - pro dipeptide ومطمورة في صلب عديد الببتيد) (الفصل الثالث عشر). والبرستيناميسين I, II الخاص من تجميع سينيرسيد هي تحويرات شبه مصطنعة، مع بديل ثيوإثر (thioether) على فضالة ٤-أوكسوبييكوليل (4-Oxopipecolyl residue) من كوينوبريستين (quinupristin) وثنائي إيثيل أمينو إيثيل سلفون البديل (diethylaminoethylsulfone substituent) على حلقة بروليل (prolyl ring) لمركب دافوبرستين (dalfopristin) (الشكل ٤,٤). وقد حسنت التعديلات الذوبان في الماء وسمحت بالقبول السريري للاستعمالات الممتدة لمعالجة عدوى المكوراتية المعوية المقاومة للفلانكوميسين (VRE).

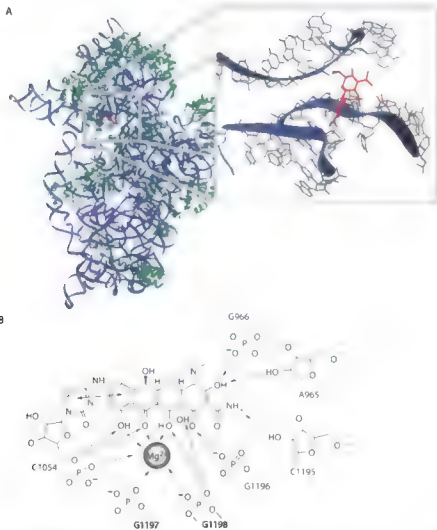


الشكل (٤,٤). تراكيب مركبات برستيناميسين I (كوينوبروستين) و برستيناميسين IIA (دافوبرستين) لمضاد الببتيد الحيوي سينيرسيد.





الشكل (٤, ٥). تراكيب التراسيكلين، كلور تراسيكلين، أو كستراسيكلين، دو كسيكسين، جليسايسكلين (DMG-MINO)، وتيجيسكلين.



اللوحة المونة (٤, ٦). (A) موقع الربط للتراسيكلين مع 16S rRNA على الوحدة الفرعية البكتيرية 30S للريبوسوم، (B) تفاعلات التراسيكلين مع لفة ٣٤ لـ 16S RNA. (مقتبسة بالإذن من برودرسن وآخرون 2000 Brodersen et al.).

ويسبب التطور التدريجي للبكتيريا المقاومة خلال عشرات السنين من الاستعمال للتراسيكلينات ومشتقاتها (شرحت الآلية في الفصل التاسع)، فقد انخفضت استعمالاته في خط المعالجة الأول. ولكن برامج مهاجمة آليات المقاومة جارية. وعلى سبيل المثال، استبدال التراسيكلين عند وضع ٩- مع جليسين أميد (glycine amide) أنتج وظيفياً مركب DMG-DMDOT (اللوحة الملونة B٤.٦) ذا نشاط ضد الإشريكية القولونية المقاومة للتراسيكلين والمكورة العنقودية الذهبية، وكذلك ضد المكورة العنقودية الذهبية المقاومة للمثيلين (MRSA) (انظر شوبرا وروبرتس 2001، Chopra and Roberts، وللمراجعة تشو وآخرون، ١٩٩٦).

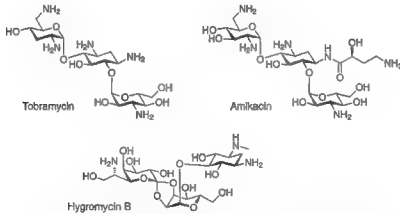
إضافة إلى آليات تدفق التراسيكلين والتي سوف تشرح في الفصل التاسع، سيمثل صنف ثاني من المقاومة بواسطة بروتينات TetO and TetM، التي قد عبر عنها كبروتينات حماية ريبوسومية. ويعرف الآن أن TetO and TetM هما تراكيب مشابهة لعنصر الإطالة EF-G، وهو إنزيم GTPase مسئول عن نقل مكان أمينو أسيل- وبيبتيديل tRNA من المواقع A and P إلى المواقع P and E في دورات نقل المواقع. وأظهر تحليل المجهر الإلكتروني (سباهن وآخرون 2001، Spahn *et al.*) لربط TetO لموقع الربط EF-G ولكن فشل في تحريض التغيرات البنيوية للريبوسوم والتي تؤدي إلى انتقال الموضع. وبدلاً من ذلك فإن التحلل المائي لـ GTP بواسطة TetO يفترض أن يشوش اللففة ٣٤ في 16S rRNA، مؤدياً إلى بنية ذاتاً لفة- أقل للتراسيكلين وإطلاقه. وهكذا ففائدة عمل GTPase هي لرفع التراسيكلين بعيداً عن الريبوسوم وتخفيف تثبيط البناء الحيوي للبروتين.

#### مضادات الأمينوغليكوسيد (Aminoglycoside antibiotics)

لقد استعملت الأمينوغليكوسيدات بشكل واسع لعشرات السنين، بعد اكتشاف ستريptomيسين في ١٩٤٤م (للمراجعة، انظر بيرسبيرج 1997، Piepersberg)، في عديد من الحالات السريرية كمضاد بكتيري للعدوى بسبب عمله القاتل للبكتيريا والتأثر الملحوظ مع المضادات الحيوية الأخرى. ولقد اقترح أن المصطلح البديل أمينوسيكليوتولات (aminocyclitols) يجب أن يستخدم ليشمل الاختلاف الواسع في التراكيب في صنف المضاد الحيوي هذا (بيرسبيرج، ١٩٩٧). هي سكريات ألفة الماء ذات مجموعات أمينو متعددة، بروتونية (protonated) عند التركيز الهيدروجيني الأيوني (PH) الفسيولوجي لتعمل كمعددة الكتيونات (polycations) وتستهدف مناطق الوصول في 16S rRNA متعدد الأيون (polyanionic) على الريبوسوم 30S، وبالتحديد الموقع A الخاص بربط أمينو أسيل- tRNA (كارتر وآخرون 2000، Carter *et al.*). لقد تم اختيار عديداً من أجيال أمينوغليكوسيدات سريراً، مع الأعضاء البارزين من عائلة توبراميسين (tobramycin)، جنتاميسين (gentamicin)، واميكاسين (amikacin) (الشكل ٤.٦) التي تحت الاستعمال السريري المعاصر. تم تناول التكوين الحيوي لصنفين أساسيين من الأمينوغليكوسيدات في الفصل

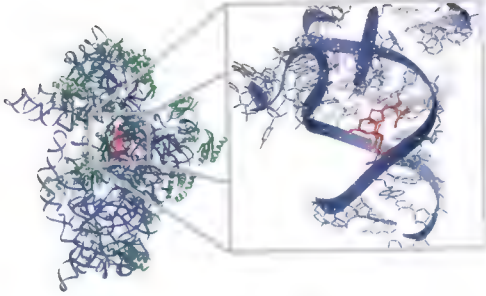
الرابع عشر. تظهر الأمينوغليكوسيدات انسمام كلوي (renal toxicity) وانسمام أذني (ototoxicity) واللذين يعتبران حصراً محدوداً. ويعتقد أن يكون الانسمام الأذني من خلال خلايا حديد (iron chelates) الأمينوغليكوسيدات التي تختزل  $O_2$  إلى جذور الأكسجين (oxygen radicals) التي تتلف خلايا الشعر في الأذن. إن الأمينوغليكوسيدات أدوية قوية ضد البكتيريا السالبة لغرام ولكنها ليست فعالة ضد الكائنات الموجبة لغرام (تشولار ويرات Scholar and Pratt, 2000)، على الرغم من أن توليفة (تجميع) الأمينوغليكوسيدات وبيتالكتامات تستعمل لمعالجة العدوى المكونية المعوية. ولوحظ أن التآزمع مضادات اليتالكتام الحيوية، وتوليفات الجنتاميسين، توراميسين، أو أميكاسين مع تاكارسلين (ticarcillin) أو بيبراسيلين (piperacillin) تعد فعالة ضد العدوى التي تسببها الزائفة الزنجارية. ويوجد عديد من طرق إزالة تثبيط الفعالية الإنزيمية في البكتيريا المقاومة كما سيلاحظ في الفصل الثامن.

لقد تم حل تركيب الأمينوسيكليول، هيجروميسين ب (hygromycin B) المرتبط بالوحدة الفرعية لريبوسوم 30S لأليفة الحرارة *T. thermophilus* بواسطة تحليل أشعة إكس (بروديرسن وآخرون 2000, Brodersen et al.) (اللوحة الملونة ٤.٧ A) وتم مشاهدة موقع الربط الفردي عند قمة اللفة ٤٤، بجانب المواقع A, P, B التابعة لـ tRNA، والتماس يكون مع قواعد رنا وليس مع ذرات الهيكل الأساسية، مؤدياً إلى نوعية تعاقب عالية في إصطفاف ممتد. وباعتبار حقيقة أن هيجروميسين B قد وُجد أنه يحجز tRNA عند الموقع A للريبوسوم، فمن المحتمل أن ارتباط الدواء يعرقل نقل البنية المطلوب أثناء عملية تكوين نقل موضع رابطة الببتيد. ربط الستريوميسين عند الوحدة الفرعية 16S تم وصفه بالمثل بواسطة تحليل الأشعة السينية (اللوحة الملونة ٤.٧ B) (بروديرسن وآخرون 2000, Brodersen et al.)، مما يعطي رؤى قوية حول كيفية إحضار الأمينوسيكليولات خطوات نقل الوضع للبناء الحيوي للبروتين في الريبوسوم نحو التوقف.

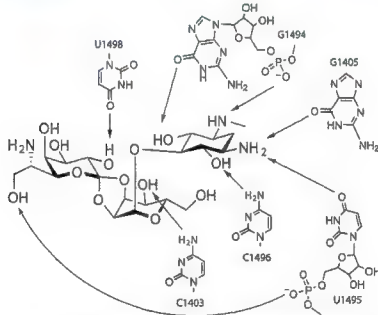


الشكل (٤، ٦). مضادات الأمينوغليكوسيدات الحيوية: توراميسين، أميكاسين، وهيجروميسين ب.

A



B



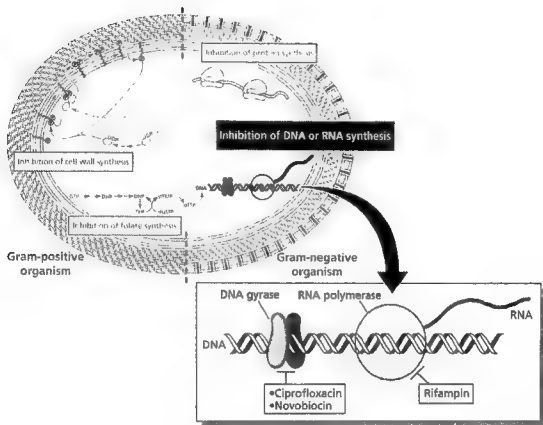
اللوحة الملونة (٤،٧). موقع الربط لـ (A) الامينوغليكوسيد هيجروميسين ب و (B) ستريptomيسين مع 16S Rrna للوحدة الفرعية الريبوسومية 30S. (مقاسة من يروديسن وآخرون 2000 Brodersen *et al.*).

### لينيزوليد (Linezolid): مضاد أوكسازوليدون الحيوي المصنّع

المضاد الحيوي الوحيد المصنّع بالكامل وفي الاستعمال السريري الذي يعرقل تبناء البروتين عند الريبوسوم هو لينيزوليد (الشكل ٤.٣)، وقد تمت المصادقة عليه بواسطة إدارة الغذاء والدواء الأمريكية في عام ٢٠٠٠م. إن لب ناقل العقار (core pharmacophore) للينيزوليد هو حلقة أوكسازوليدون (oxazolidinone ring)، وقد تم وصفه



كاول مضاد حيوي تركيبه جديد تم تقديمه في ثلاثة عقود (تالي وديبرون 2000 Tally and DeBruin). ولقد تم العثور على طفرات المقاومة للينيزوليد (كلوس وآخرون 1999 Kloss *et al.*) المرسومة على مواقع 23S rRNA بجانب مركز بيتيديل ترانسفيراز (ناقلة الببتيديل)، وهي متوافقة مع الدراسات الحديثة المتعلقة بالحركية التي أظهرت أن أوكسازوليدينون هي مثبطات تنافسية لكل من مواد الموقع A والموقع P (باتيل وآخرون 2001 Patel *et al.*). ولقد تم افتراض آلية العمل بأنها إحتلال الموقع P في مركز بيتيديل ترانسفيراز (ناقلة الببتيديل) في الريبوسوم، الذي يعرقل الخطوة الأولى لتكوين رابطة الببتيد في تكوين البروتين (باتيل وآخرون 2001 Patel *et al.*). إن اللينيزوليد هو أكثر فعالية ضد البكتيريا الموجبة - لغرام وتشمل VRB وله إتاحة حيوية - فموية عالية. وسيتم توضيح النقطة العلاجية مع مرور زمن المصادقة عليه ويتراكم الخبرة السريرية.



المضادات الحيوية التي تعطل تكرار دنا و رنا

## المضادات الحيوية التي تعرقل تكرار وترميم الحمض

### النوي دنا: الكوينولونات

#### ANTIBIOTICS THAT BLOCK DNA REPLICATION AND REPAIR: THE QUINOLONES

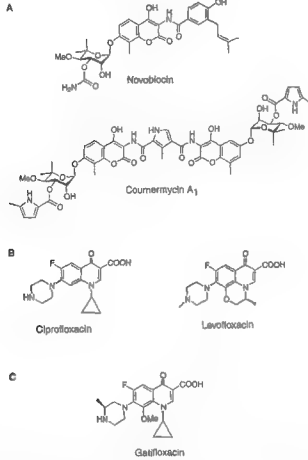
المجموعة الوظيفية الثالثة الكبرى للمضادات الحيوية هي تلك التي تعرقل تكرار (replication) وترميم (repair) الحمض النووي دنا DNA. يسلط الشكل على الصفحة المقابلة الضوء على القسم الفرعي الموافق للشكل (٢.٢) وعلى تثبيط تكوين دنا DNA و RNA بواسطة الأدوية المضادة للبكتيرية من صنف الكوينولون (quinolone) وريفاميسين (rifamycin). كما أن صنف الريفاميسين من مضادات عديد الببتيد / وعديد الكيتيد (polyketide) الحيوية تم تناولها في الفصل القادم.

إنزيم دنا غيراز (DNA gyrase) كهدف للكوينولونات (quinolones)

والكومارينات (coumarins)

إن تثبيط تكرار دنا (DNA) وإنزيمات الترميم يهدف منطقي لعمل المضاد البكتيري بواسطة منتجات طبيعية تصنع بواسطة ميكروبات تقتل جيرانها. وأحد هذه أصناف هذه الجزيئات، هو الكومارينات، مُثَلَّة بواسطة مستقبلات (أضيات) المتسلسلة (streptomycete) مثل نوفوبيوسين (novobiocin) و كوميرميسين (coumermycin) (الشكل ٥.١)، والتي قد تمت دراستها لعدة سنوات وخدمت لتحديد الإنزيمات المسماة دنا النوع II توبوايزوميرازات أو إنزيمات توبوايزوميرازات (موضع التزامر) (DNA type II topoisomerases) وبالأخص دنا غيراز (الجدول ٥.١). كهدف قاتل (ماكسويل 1997, Maxwell). ولكن الصنف من الجزيئات المصنعة، وهي فلوروكوينولونات (fluoroquinolones) مُثَلَّة بليفوفلووكساسين وسبروفلووكساسين (levofloxacin and ciprofloxacin) (الشكل ٥.١ B)، والتي قد أصبحت تستعمل بشكل واسع؛ بسبب فعاليتها ضد كل من البكتيريا السالبة والموجبة - لغرام في عداوى الجهاز البولي، التهاب العظام، الالتهاب الرئوي المكتسب من المجتمع والتهاب المعدة والأمعاء (جرينود 2000, Greenwood، شولار وبرات 2000, Scholar and Pratt). وعلى العموم فإن الجيل الأحدث من

الكوينولونات، مثال جاتيفلوكساسين (gatifloxacin) (الشكل ٥.١ C)، لها فعالية متزايدة ضد الممرضات الموجبة - لغرام (برونسون وباريت 2001a). ولقد اكتسب السبروفلوكساسين شهرة حديثة أكثر كدواء مصادق عليه من قبل هيئة الغذاء والدواء لقتل العصية الجعمرية (*Bacillus anthracis*) في عداوى الجعمر.



الشكل (٥.١). المضادات الحيوية التي تليط دنا غيراز وتوبوايزوميراز (A): مضادات أمينوكيمارين الحيوية (aminocoumarin antibiotics)، (B) الكوينولونات (سبروفلوكساسين وليفوفلوكساسين)، و (C) الكوينولونات الجديدة (جاتيفلوكساسين).

تغير إنزيمات دنا توبوايزوميراز العدد الارتباطي في دنا زائد اللفة (supercoiled) بواسطة عمل قطع مؤقت في ركيزة دنا ومن ثم تحرير ليرتاج وضعياً (بوضع جنيني) من خلال كسر مؤقت، إما خيط واحد في المرة (النوع I) وإما كلا الخيطين في الوقت نفسه (النوع II) (الجلبول ٥.١). (للمراجعة انظر ماكسويل 1997، Maxwell، ووانج 1996، Wang). وتعتبر إنزيمات توبوايزوميرازات أساسية لحياة الخلية في كل من خلايا بدائيات النواة وخلايا سويات النواة، وتعتبر مشبطات الكوينولون من نوع II أيزوميرازات في الخلايا البكتيرية، مضادات بكتيرية قوية ذات انتقائية كافية لتكون

نافعة، بينما مضبّطات أيزوميرازات في الإنسان تشمل كامبتوتيسين (camptothecin) وإيتوبوسيد (etoposide)، اللذين يستعملان في المعالجة الكيميائية للسرطان لتقتل خلايا الورم سريعة النمو.

يعتقد أن يكون الإنزيم اللفائفي دنا غيراز مهماً للتحكم في وضعية دنا (topology) في تكرار دنا، التناشيب (recombination)، والانتساخ (transcription)، بينما توبوايزوميراز (توبو) IV هو كذلك مشتمل في تكرار دنا ونزع التسلسل (decatenation) من إينة الكروموسومات المرتبطة عند نهاية تكرار دنا البكتيري (بان وفيشر 1997, Pan and Fisher).

الجدول (١، ٥). خواص توبوايزوميرازات للإشريكية القولونية.

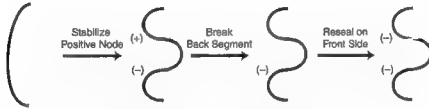
الإنزيم	النوع	جين (جينات)	الوظيفة الأساسية للإنزيم
توبوايزوميراز I	I	توب A ( <i>top A</i> )	يريح اللفات الزائدة السالبة
توبوايزوميراز II (دنا غيراز)	II	غير A ( <i>gyr A</i> ) غير B ( <i>gyr B</i> )	يدخل لفات زائدة سالبة، ويريح اللفات الزائدة الموجبة
توبوايزوميراز III	I	توب ب ( <i>top B</i> )	يتنزع تسلسل وسائط التكرار ومركبات دنا مزدوجة الصيغة الجزئية (dimers) بين الروابط
توبوايزوميراز IV	II	بار س ( <i>par C</i> ) بار إي ( <i>par E</i> )	يتنزع تسلسل دنا، يزيل اللفات الزائدة الموجبة والسالبة

وقد وُجد أن بعض الكوينولونات انتقائية لتوبو II (دنا غيراز) أكثر من توبو IV في حين أن الكوينولونات الأخرى تظهر عكس السلوك. ومن ناحية أخرى تم اقتراح أن يكون توبو IV الهدف الأولي في سلالات المكورة الذهبية العنقودية، بينما في سلالات المكورة العقدية الرئوية، يختلف الهدف الأولي بين توبو II وتوبو IV (نج وآخرون 1996, Ng *et al.*). وقد قيم تاكي وآخرون (Takei *et al.*, 2001) حديثاً ١٥ من الكوينولونات ضد المكورة العنقودية الذهبية MS5935 وقسم الدواء إلى ثلاثة أصناف. أحد المجموعات (نورفلوكساسين (norfloxacin)، سبروفلوكساسين (ciprofloxacin)، ليفوفلوكساسين (levofloxacin) وغيرها) يبدو أنها تهدف توبو IV تفضيلاً بينما صنف آخر (سبارفلوكساسين (sparfloxacin)، ناديفلوكساسين (nadifloxacin) كان أكثر انتقائية لـ دنا غيراز (توبو II). والمجموعة الثالثة من الكوينولونات (جاتيفلوكساسين (gatifloxacin)، موكسيفلوكساسين (moxifloxacin)، وغيرهم) تهدف توبو II وتوبو IV بالتساوي في السلالات الأبوية والطفرات للمكورة العنقودية الذهبية.

#### الدورة الحفازة للإنزيم اللفائفي دنا غيراز

إن إنزيم دنا غيراز الذي يوجد في جميع الخلايا البكتيرية هو إنزيم  $A_2B_2$  رباعي الأقسام متغاير (heterotetrameric)، ومشفر (مُرمز) بواسطة الوحدات الفرعية جبراً وجبر ب *gyrA* and *gyrB*، وتوبو IV أيزوميراز

(topo IV isomerase) المشابه المرمز بواسطة جينات بار س وبار إي (*par C and par E*) تنبع نفس الآلية. يُدخل دنا غيراز لفات زائدة سالبة في ركيزة دنا الحلقي ذا الخيط- المزدوج. لاحظ كوزاريللي (Cozzarelli, 1980) المتطلبات الأزمة لهذا الغرس الموضعي أولاً كالتواء ل دنا لإنتاج قالب ذي عقدة موجبة (الشكل ٥.٢)، وانفلاق الخيط- المزدوج للقطعة الخلفية، مرور الخيط-المزدوج خلال الكسر، ثم إعادة التحام للخيط- المزدوج على الجانب الأمامي. ويعتبر النوع II من الدورة المحفزة ملاحظ آلياً، وأن التركيب الهندسي للتوبوايزوميرازات معقد بشكل لائق، كما يظهر بواسطة تركيب أشعة-إكس لجزء كبير من خميرة توبو II (بيرجر وآخرون Berger *et al.*, 1996) (الشكل ٥.٣).



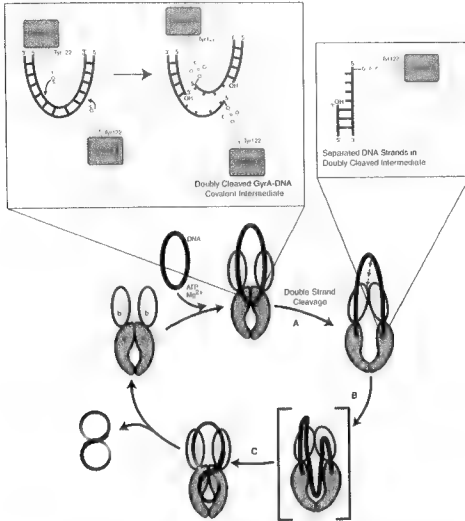
الشكل (٥.٢). نموذج لتكوين اللفة الزائدة بواسطة دنا غيراز البكتيري. (بواسطة كوزاريللي ١٩٨٠).



الشكل (٥.٣). تركيب أشعة إكس للمركب مزدوج الصيغة الجزيئية (المتنوي) الجزء -92 kDa- خميرة توبوايزوميراز II (من بيرجر وآخرون Berger *et al.*, 1996).

وبعد ربط دنا مزدوج- الخيط في معقد الإنزيم -الركيزة الأولى (enzyme-substrate (ES)، يهاجم فينوليك هيدروكسيل أليف النواة (nucleophilic phenolic hydroxyl) لتير ٢٢ (Tyr<sub>22</sub>) (ترقيم الإشركية القولونية) على واحد من اثنين من الوحدات الفرعية GyrA ويهاجم الرابط داخل رابطة إنتريوكليوتيد ثنائي إستر الفوسفات (internucleotide phosphodiester bond) على أحد خيوط دنا، ليفلق ذلك الخيط لينتج نهاية النهاية 3'-OH الحرة، وعكسك نهاية 5' كوسيط دنا -فوسفوتيروسيل وسيط تساهمي (DNA-phosphotyrosyl covalent intermediate) (الشكل ٥.٤ A). وفي هذه الأثناء، يهاجم Tyr المكافئ في الوحدة الفرعية الثانية GyrA، رابطة أنتريوكليوتيد ثنائي إستر الفوسفات على أربعة نيوكليوتيدات من الخيط الآخر لد دنا في أسفل التيار ليكمل كسر الخيط -المزدوج ويصنع الإنزيم الوسيط الثاني DNA-5'-P-tyrosyl على الخيط المكمل. وذلك يكمل خطوة انفلاق دنا وينتج نهايتان دنا 3' حرة، ما تزالان تقترن قاعدياً في مكان آخر في اللغة المزدوجة، ونهايتان DNA 5'-GyrA متشكلة تساهمياً. ولنفجوة الخيط -المزدوج ٤ قواعد بارزة، ولكن من المحتمل وجود عدد لف موضعي وتوسيع للفجوة، ربما يتم بواسطة التغيير البنيوي في الإنزيم - كسر دنا الوسيط التساهمي لتعرض الفجوة بحيث إن الإنزيم يستطيع الآن أن يوافق مرور اللغة المزدوجة ذات العرض 20-Å (الشكل ٥.٤ B) خلال الفجوة ليؤثر على الاسترخاء الموضعي (topological relaxation).

توجد منطقة بوابة لد دنا في خميرة إنزيم توبو II التي أيدت النموذج المشار إليه في مرور الخيط- المزدوج. ومن الواضح أنه يجب أن يكون هناك تغييرات كبيرة في بنية كل من الإنزيمين وتغير دنا عند عدة مراحل في الدورة المحفزة. وعند هذه النقطة يجب على الإنزيم أن يرمم ذاتياً كسور الخيط -المزدوج، ويعيد تربط كسر دنا. وبالإمكان إنجاز ذلك بنشاط مشابه بواسطة جعل كل من النهايات 3'-OH لخيوط دنا تهاجم إنزيم 5'-P-Tyr<sub>122</sub> على كل وحدة فرعية، وتوليد فوسفورين الخموس المساهم المقرب (pentacovalent phosphorane adduct) ومن ثم إخراج تير<sub>١٢٢</sub>-فينوليت (Tyr<sub>122</sub>-phenolate) تاركاً المجموعة لإعادة تربط كل خيط. وهذا هو معقد ناتج-الإنزيم (E.P)، والخيط-المزدوج- دنا السليم، المسترخي يستطيع التفكك أو الدخول في دورة محفزة أخرى من إنقاص رقم الربط الموضعي: كسور الخيط-المزدوج، مرور دنا خلال الفجوة وسيط الركيزة- الإنزيم التساهمي، يتمها تربط الخيط -المزدوج. يتميز دنا غيراز عن توبو IV والأنواع الأخرى II توبوآيزوميرازات بأن له القدرة على دفع التكافؤ في الاتجاه الآخر، ليس للاسترخاء ولكن للالتفاف الشديد، بواسطة استعمال انفلاق دنا إلى ADP و P<sub>i</sub> كتقوة حرارية حركية دافعة (ماكسويل، ١٩٩٧).



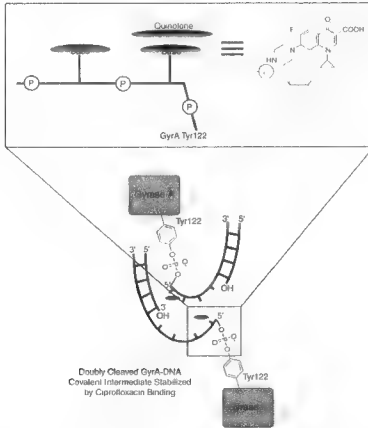
الشكل (٤، ٥). رسم لآلية دنا غيراز: (A) انفلاق الخيط - المزدوج دنا وتكوين الإنزيم المزدوج التساهمي، (B) مرور الخيط - المزدوج لعدد ربط أقل، و(C) إعادة تريبط للدنا المزدوج المكسر.

### آلية عمل مضادات الكوينولون المضادة البكتيرية

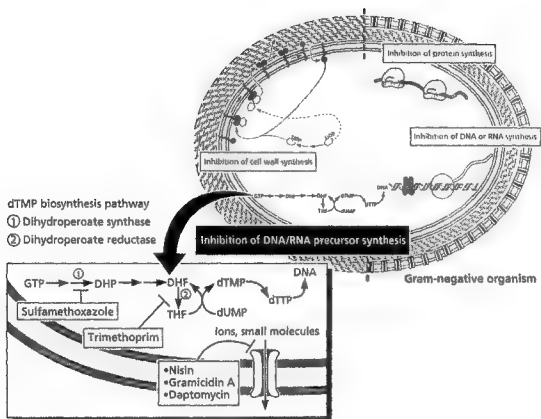
لقد تم صنع الآلاف من مضادات الفلوروكوينولونات حول لب النواة المستوى الحلقي المتناهي (planar heterocyclic nucleus) الذي يكسب العائلة اسمها (ولفسون وهوبر 1989). وقد بينت التحاليل المكثفة أن الكوينولونات يؤثر على توازن انفلاق/وترتيب الخيط - المزدوج في الدورات الحفّازة للغيراز وتوبو IV، حيث يتراكم المعقد المنفلق. يُمنع الوسيط المكافئ DNA-5'-P-Tyr<sub>122</sub> الموجود على كل وحدة فرعية GyrA من إعادة التريبط القابل للعكس في وجود الكوينولونات. كما توجد توقعات حول هل يُسرّع الكوينولونات خطوة الانفلاق - المزدوج للدنا المرتبط أو أنه يبطئ انتقائياً خطوة إعادة التريبط - المزدوج، بدون دليل واضح ومحدد لأي من التفسيرات. إن الآلية عن



كيفية تحفيز الكوينولونات لتراكم وسيط الإنزيم دنا التساهمي - مزدوج الكسر ما تزال غامضة. وتوجد نقاط ساخنة على كل من الوحدات الفرعية GyrB, GyrA التي المقاومة للكوينولونات، مما يفترض تفاعل إنزيم كلا الوحدات الفرعية مع الدواء المرتبط، ومن المحتمل أن الكوينولونات تتفاعل كذلك مع دنا المنفلق. كما أن التوقعات متقدمة حول كل من تكديس - القاعدة للحلقة المتغايرة للكوينولون المستوي والتعقيد المتواسط بالمغنيسيوم ( $Mg^{2+}$ ) مع واحد أو أكثر من مجموعات فوسفات دنا، إضافة إلى فكرة أن حلقة الكوينولون تُحمم عند نهاية 3' end في كسر دنا في المكان الذي تم إخلاؤه بواسطة الجزء 5' المستبدل لكسر دنا (الشكل ٥.٥). وقد يكون تحليل أشعة -إكس للكوينولون- الإنزيم - وسيط - دنا المنفلق الطريقة الوحيدة لحل هذا الغموض وتغيير تصميم دواء الكوينولون لمستوى جديد. وبمجرد تراكم كوينولون - غيراز التساهمي - وسيط كسر دنا - المزدوج، يعتقد بأن فعل القتل يكون من التأثير أسفل التيار لهذه العرقلة على تقدم تكرار تفرعات دنا التي أوقفت بذلك (ماكسويل، ١٩٩٧). وربما أن آلية ترميم دنا قد جُهزت، والمحاولات للوصول للإنقاذ - تفشل باستمرار كوينولون المعاند - غيراز المثبت - وسيط دنا. وقد يكون ذلك الإشارة المحفزة بالكوينولونات التي تأذن بالعملية التي تؤدي إلى القتل السريع للبكتيريا.



الشكل (٥.٥). الآلية المحتملة لتكوين لقاعدة الكوينولون لتثبيت وسيط الإنزيم المكافئ مع كسر دنا المزدوج - المحيط.



أهداف أخرى مصادقة للأدوية المضادة البكتيرية

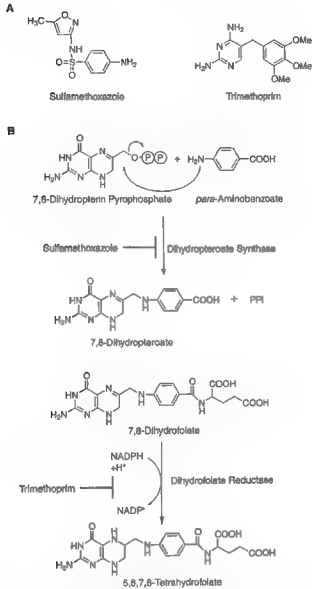
## أهداف أخرى للأدوية المضادة للبكتيريا

### OTHER TARGETS OF ANTIBACTERIAL DRUGS

الشكل في مقدمة الفصل يعتبر الرابع من هذه الرسومات، وهي موجودة في كل من الفصول الثالث إلى السادس، والتي تسلط الضوء على المجموعات الأساسية للمضادات الحيوية. ويشمل ذلك الأدوية التي تعرقل البناء الحيوي لعلية (precursor) الأحماض النووية إضافة إلى المضادات الحيوية التي تعمل على تعطيل جانب واحد أو أكثر من وظائف الغشاء البكتيري.

#### أيض حامض الفوليك: الهدف لسلفاميثوكسازول - تريإيثوبريم (sulfamethoxazole-trimethoprim)

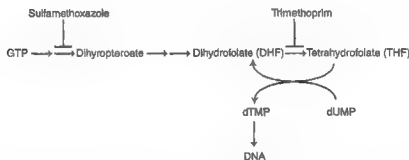
تعد أدوية السلفا من صنف الكيمائيات المصنعة والمستعملة لفترات زمنية طويلة كمضادات بكتيرية فعالة، واختبرت بداية في الثلاثينيات كجزيئات قاتلة -البكتيريا. والجبل الحالي من أدوية السلفا هو سلفاميثوكسازول، والذي يستعمل كتوليفة مع تريإيثوبريم (الشكل ٦.١ A) لمعالجة المرضى المصابين بعداوى الجهاز البولي وكذلك لمرضى الإيدز المصابين بعداوى التوكسية الرئوية الجذوية (*Pneumocystis carinii*) (تشولار وبرات Scholar and Pratt, 2000). وهذا الدواء الزوج يصادق كذلك على أن توليفة المعالجة الكيميائية بالإمكان أن تكون إستراتيجية فعالة في معالجة العداوى البكتيرية. وكل من جزيئات الدواء تعرقل خطوة في أيض حامض الفوليك. فالسلفاميثوكسازول يعرقل إنزيم ديهيدروبيتيروات سينثاز (dihydropteroate synthase) في مسار البناء الحيوي للفوليت وبينما يثبط تريإيثوبريم ثنائي هيدروفوليت ريدكتاز (DHFR) (dihydrofolate reductase)، الذي يعتبر الإنزيم الأساسي الذي يوفر الاحتياج من بيريديم ثيميديليت (pyridine thymidylate) للبناء الحيوي للـ DNA (الشكل ٦.١ B). وهكذا فالنطق وراء التوليفة هو العرلة التآزرية (synergistic blockade) لخطوتين مختلفتين في الكيمياء الحيوية لهذا الإنزيم الأساسي المشارك (coenzyme). ويتوجب على البكتيريا أن تصنع هيكل فوليت من جديد، بينما تستطيع سويات النواة أن تبحث عن الفوليت من المصادر الغذائية وتقلها داخل الخلايا. إن هدف ثنائي هيدروبيتيروات سينثاز (dihydropteroate synthase) (غائب بالكامل في الإنسان بينما DHFR يملك فروقات تركيبية كافية من خلالها يمكن تحقيق التثبيط الانتقائي).



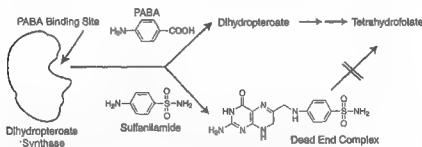
الشكل (١، ٦). (A) توليفة سلفاميثوكسازول-ترايمثوبريم، (B) التفاعلات الحفازة بواسطة الإنزيمات المستهدفة، ثنائي هيدروتريوت سينثاز وثنائي هيدروفولات ريدكتاز (dihydropteroate synthase و dihydrofolate reductase).

يُحشد dihydropteroate إنزيمياً من طليعة ٧,٨-دايهدروتريوتين بيروفوسفات (7,8-dihydropterin pyrophosphate) (precursor)، والذي ينبثق مجد ذاته من نيوكليوتيد GTP الشائع والمادة المشاركة ب- أمينوبنزوات (p-aminobenzoate) (PABA). إن التحول الكيميائي غير عادي، وبناء رابطة أمين  $\text{CH}_2\text{-NH}$  amine bond بواسطة استبدال الأكسجين الكحولي (alcohol oxygen). وفي هذه الحالة يتم تحويل الأكسجين إلى مجموعة مغادرة منخفضة- الطاقة بواسطة الاشتقاق (derivatization) المسبق كسطر بيروفوسفات. ولاحقاً يتم غلوتاميليت (glutamylated) الناتج دايهدروتريوت إنزيمياً لإكمال

البناء الإنزيمي ليكل الفوليت (الشكل ٦.٢). عندما لوحظ أن السلفوناميدات التي تحتوي على أمينات الأريل (aryl amines) هي مضادات بكتيرية، تبعت الآلية أخيراً على أنها تقليد لـ PABA في هذا التفاعل الإنزيمي. فالسلفوناميد على سبيل المثال (الشكل ٦.٣) هي تقليد بسيط جداً، بينما للسلفاميثوكسازول حلقة غير متجانسة على نيتروجين السلفوناميد. وهذه مثبطات تنافسية للـ PABA الموقع النشط لـ ديهيدروبتيروات سينثاز dihydropteroate synthase وتستطيع أن تعمل كمادة بديلة أيضاً. وعند حدوث ذلك التدفق يتم جر البترين (pterin) إلى نهاية أيض ميتة حيث إن هذه المقربات نحو المركز (adducts) لا تعد مواد بترويلغلوتاميلترانسفيرازات (pteroylglutamyltransferases). لقد تم تحديد تركيب أشعة-إكس لإنزيم الإشريكية القولونية المعقد مع dihydropterin pyrophosphate وسلفانيليميد (sulfanilamide) (أكاري وآخرون 1997، Achari *et al.*)، مما أثبت آلية الشيط.



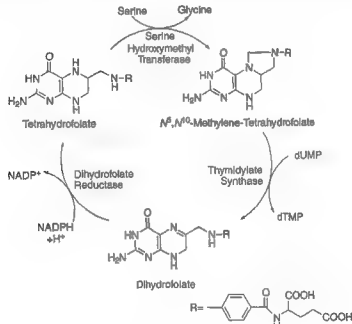
الشكل (٦.٢). سبيل البناء الحيوي البكتيري من GTP إلى بترويل - بوليغلوتامات (فوليت) (folate) (pteroyl-polyglutamate).



الشكل (٦.٣). أدوية السلفا كمثبطات تنافسية ومواد بديلة لتأني هيدروبتيروات سينثاز (dihydropteroate synthase).

يعرقل الترايميثوبريم إعادة التدوير الإنزيمية للإنزيمات المشاركة للفوليت من (7,8-dihydrofolate DHF) إلى (5,6,7,8-tetrahydrofolate THF) حالة الأكسدة بواسطة DHFR. DHFR هو جزء من ثلاثة إنزيمات من دورة الأيض (الشكل ٦.٤)، التي تحوّل مجموعة  $\text{CH}_2\text{OH}$  للحامض الأميني سيرين (serine) نحو مجموعة الميثيل  $\text{C}_3=\text{CH}_3$  لـ dUMP 2' (dTMP=) (thymidylate) بواسطة العمل التعاقبي لسيرين ترانسهيديروكسيميثيلاز (serine

(transhydroxymethylase)، ثيميديليت سينثاز (thymidylate synthase) و DHFR (والش 1979، Walsh). وحيث أن dTMP هو مصدر واحد من أربعة من النيوكليوتيدات، فيتطلب dTTP لتكرار الـ DNA، فيتوقف نمو الخلية عندما ينقطع وجوده. يعتبر تفاعل ثيميديليت سينثاز (thymidylate synthase) مركز هذه الدورة، مستعملًا 5,10-CH<sub>2</sub>-THF كمادة مشاركة مع dUMP ليضيف إختزالياً (reductively install) CH<sub>2</sub> كمجموعة C<sub>5</sub>-methyl (CH<sub>3</sub>)، على حساب أكسدة ميثكل THF إلى DHF. ولا يمكن إعادة الدورة ثانية إلى أن يتم إختزال DHF إلى THF؛ بسبب أنه فقط في حالة أكسدة الهيدروجين الرابعي (tetrahydro oxidation state) يستطيع نيتروجين N<sub>3</sub> أن يهاجم ويمسك CH<sub>2</sub>=O المنطلق من السيرين.



الشكل (٤، ٦). ثلاثة - إنزيمات لدورة الفوليت والمشتتة في تحويل dUMP إلى dTMP للنماء الحيوي للـ DNA.

يعد DHFR أساسي لجميع الخلايا. وتنشيطه انتقائياً بواسطة ترايبيثوريم في البكتيريا ينتج دواء مضاد بكتيري، وعمل سيكلوغوانيل (cycloguanil's action) في طفيليات الملاريا يعطي عامل مضاد للملاريا، وعمل ميثوتركسيت (methotrexate's action) في خلايا الإنسان يؤدي إلى استعماله الواسع في نظام المعالجة الكيميائية للسرطان. ويبلغ K<sub>i</sub> لـ DHFRs البكتيري الأزم لتنشيط إختزال DHF بواسطة ترايبيثوريم حوالي ٥ إلى ١٥ nM، قوي جداً بالفعل بينما انتقائية DHFRs البكتيري أعلى من ذلك الفقاريات بحوالي ٦٠,٠٠٠ - ٣٠٠,٠٠٠ nM (تشولار وبرات، 2000، Scholar, and Pratt)، النوعين من إنزيمات DHFR لتساعد الجهود المستمرة لزيادة الانتقائية لأعلى مستوى.

إن تقييم جدارة مثبط ثنائي هيدروبيرووات سينثاز (dihydropteroate synthase) ومثبط DHFR المستعملة كتوليفة يقترح أنه بينما السلفوناميدات تغلق البناء الحديد للفلويت، فمستويات الفوليت المتجمعة ستأخذ عدة أجيال لتتناقص، عاملة على آلية قتل بطيئة. إن إضافة ترائيمثوبريم يحبس جزئيات إنزيم الفوليت المشارك في الشكل DHF غير المفيد بعد كل دورة من بناء dUMP، مؤدياً إلى النقص السريع لشكل THF من الإنزيم المشارك. وفيما يخص البكتيريا الخماسية في عداوى الجهاز البولي، يستطيع الترائيمثوبريم إظهار ١٠٠- طية تأخر مع دواء السلفا (تشولار ويرات 2000, Scholar, and Pratt, الجدول ٧.٥).

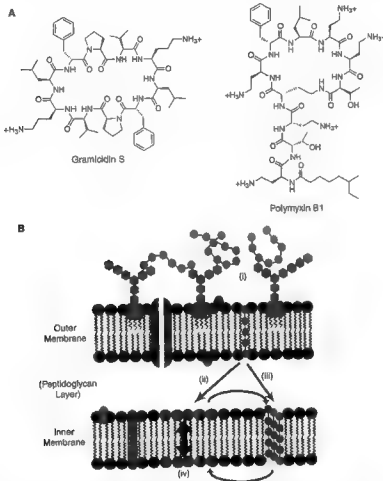
إن اختيار توليفة ثابتة من السلفاميثوكسازول وترائيمثوبريم (انظر تشولار ويرات 2000, Scholar and Pratt) يماثل كذلك أعمارهم النصفية في جسم الإنسان من ٩-١٢ ساعة، وبهذه المستويات لكلا الدوائين تكون فعالة خلال فترة الجرعة. ولقد تطورت المقاومة لكل من السلفوناميدات والتريثوبريم (الفصل السابع عشر) بعد سنوات من الاستعمال السريع، مما يثير الجدل حول الحاجة للإستبدالات التركيبية للأدوية لهذه الإنزيمات المستهدفة.

### مضادات الببتيد (Peptide antibiotics)

تصنع البكتيريا، الفطريات، النباتات، سويات النواة العليا وحتى الإنسان مضادات الببتيد المضادة للمكروبات، وتشمل مجنبنات (imagingins) من الضفادع وديفنسينات (defensins) من الإنسان (هانكوك وتشابلي 1999, Hancock and Chapple). لقد لاحظنا في الفصول السابقة الببتيدات غير المشتقة من الريبوسومات (nonribosomally derived peptides) والتي تعطي مضادات الببتيد اللاكتام الحيوية، مضادات الغليكوبيبتيد (الببتيد السكري) من صنف فانكوميسين، وليبوغليكوبيبتيدات (الببتيدات السكرية الدهنية) راموبلانين (ramoplanin) وتيكوبلانين (teicoplanin) وتوليفة كوينوبريستين- دالفوبريستين (quinupristin-dalfopristin) سينيرسيد (Synercid). هذه وكما سلاحظ لاحقاً في الفصل الثالث عشر، تدمج مكونات حامض أميني غير اعتيادية، هي عالية التعديل ضد تكسر إنزيم البروتياز (protease)، وهي غالباً ما تكون محصورة التركيب البنيوي في بناء هندسي محافظ الذي يعطى تميز بيولوجي (حيوي) ووظيفة معينة. وبشكل مماثل، للببتيد الريبوسومي الإنتاج ميكروسين B17 (microcin B17) ١٤ من ٤٣ روابط الببتيد ليهيكله معدلة إلى ٨ دورات متغايرة ذات ٥- حلقة عضوية (5-membered ring heterocycles) قبل أن تظهر نشاطها ضد إنزيم دنا غيراز (DNA gyrase) (الفصلان الرابع عشر والخامس عشر).

بعض الببتيدات غير الريبوسومية البكتيرية، وتشمل باستراسين (bacitracin)، جراميسيدين S (gramicidin S) وبوليميكسين B (polymyxin B) (الشكل ٦.٥)، بينما تكون حلقة (cyclized) لتحصر التركيب البنيوي ولتنظم مسبقاً (جراميسيدين S هو صفحة (لويحة) -بيتا حلقة)، ربما تعمل بشكل غير نوعي كببتيدات كتيونية غير أليفة الماء-غارسة للأنشاء (membrane-inserting cationic hydrophobic peptides). وللباستراسين كذلك خاصية نوعية لتثبيط إعادة دوران C<sub>55</sub> أنديكابرينول بيروفوسفيت (C<sub>55</sub> undecaprenol pyrophosphate) في الأغشية البكتيرية بواسطة

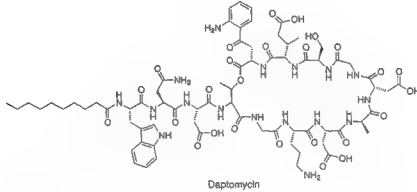
التعقيد المعتمد على الكتيون (cation dependent complexation) مع الدهن بدلاً من الإنزيم. وهذه الخواص -قاصدة الغشاء تُكسب قابليات سامة وجميع هذه الببتيدات الثلاثة تعد سامة جداً بواسطة خاصية تزيق الغشاء في خلايا الفقاريات، ولا يمكن استعمالها مجموياً. كما أن لها مكانة محددة جيداً في صياغات المضادات الحيوية الموضعية (غير مسمى 1999، Anonymous، غير مسمى 2001). الببتيدات الحلقية ذات ستة إلى ثمانية بقايا (residues) مع مراكز D- و L- والتي تم الإبلاغ أنها تتكدس داخل أنابيب بيتا الصغيرة ( $\beta$ -tubules)، وتغرس داخل الغشية البكتيرية، وتزيد النفوذية كعوامل مضادة بكتيرية (فرنانديز-لوبيز وآخرين 2001، Fernandez- Lopez *et al.*).



الشكل (٦،٥). (A) مضادات الببتيد الكتيونية التي تغرس في الأغشية. (B) رسم للغرس في الغشاء والتزيق في البكتيريا السائلة-لغرام (مقتبسة بالإذن من من هانكوك وتشابيل Hancock and Chapple). الببتيدات الكتيونية غير المطوية مصاحبة للشحنة السالبة على الغشاء أو ترتبط بمواقع الربط الكتيوني على الدهن عديد السكريد، لتعبر إلى الغشاء الخارجي. (٢) ومن ثم ترتبط مع الشحنة السالبة على سطح الغشاء السيولازمي وتغرس لببتيد amphipathic المطوي داخل الغشاء في السطح الفاصل، (٣) والتجمع بشكل معقدات بشكل ملدبة -جسم مكهرب شبه غروي- أو (٤) تغلب عبر الغشاء. بعض الببتيدات تستطيع بعد ذلك أن يتفكك من الغشاء إلى داخل السيولازم.



للبوليميكسين (polymyxin) مجموع شحنة  $5+$  ويصل لكل من الأغشية الخارجية والأغشية الداخلية للبكتيريا السالبة لغرام. توجد طفرات في الجينات المتورطة في أيض عديد السكريد الدهني (lipopolysaccharide) للغشاء الخارجي الذي يزيد المقاومة للبوليميكسين بواسطة دمج أشطر ٤-أمينوأرابينوز (4-aminoarabinose moieties) على الدهن A (lipid A) الأنيوني لإنقاص مجموع شحنته والإنجذاب للكهرباء الساكنة (electrostatic attraction) نحو البوليميكسين (بالتز 1997, Baltz). آلية العمل المقترحة للبيبتيدات الكتيونية مع الأغشية البكتيرية السالبة -لغرام موضحة في الشكل (٦.٥). ومن المحتمل أن لجميع مضادات البيبتيد الدهنية (lipopeptide) بعض مكونات النفوذ للغشاء وتغزيق الغشاء مع فعاليتها الحيوية. فعلى سبيل المثال، فالبيوبيبتيدولاكتون دابتوميسين (lipopeptidolactone) (daptomycin) (الشكل ٦.٦)، التي تكون معقد مع أيونات الكالسيوم  $Ca^{2+}$ ، قد تُظهر جزء من فعاليتها المضادة للبكتيريا من خلال خاصية البحث- عن الغشاء، والسلوك النشط - على السطح (surface-active behavior). والجزء الآخر من عمل دابتوميسين قد يكون بالتحديد عرقلة البناء الحيوي لمكونات حامض تيكويك الدهني (lipoteichoic acid) للأغشية الخارجية للبكتيريا الموجبة - لغرام (بالتز 1997, Baltz). والدابتوميسين هو في المرحلة الثالثة من التطوير السريري لمعالجة العدوى الخطيرة الموجبة - لغرام (تالي ودي برون 2000, Tally and DeBruin).

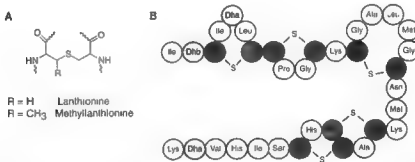


الشكل (٦.٦). تركيب مضاد ليوفيسبيبتيد (lipopeptide) دابتوميسين (daptomycin).

وبالإضافة إلى مضادات البيبتيد التي تنتجها المكروبات، يوجد حوالي ٥٠٠ ببتيد معروف منتج بواسطة الكائنات المتعددة الخلايا (انظر زاسلوف للمراجعة) لتعمل كموامل مضادة ميكروبية واسعة - المدى. وهذه تنزع لأن تكون بيبتيدات خطية (linear peptides) والتي تنشأ بواسطة العمل الحال لطلائع البروتين (proteolytic) وتستطيع أن تكون كبيبتيدات قاصدة- للغشاء، مأبونة من كلا الجانبين (amphipathic) بواسطة تقديم لوحات من السلاسل الجانبية غير- الأليفية للماء (hydrophobic) موجبة الشحنة لغرسها في الأغشية الميكروبية عند تراكيز جزيئية دقيقة. وقد يكون تطوّر المقاومة بطيء جداً؛ بسبب آلية الغرس في الغشاء، بينما قد تظهر بعض الانتقائية؛ بسبب

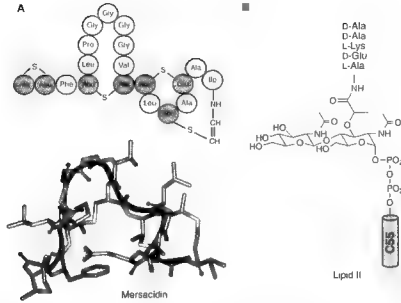
أن للأغشية البكتيرية الخارجية مكونات جزيئية أيونية أكثر من تلك التي في أغشية الخلايا الحيوانية. والأنسجة الظهارية والخلايا هنالك قد تطلق (كوكثيل) خليط من تلك الببتيدات والتي بإمكانها أن تكون مهمة لآليات المناعة الفطرية. ويظل المطلوب معرفته ما إذا كانت الببتيدات الكتيونية الحطية لعائلات المجين (magainin) والدفسين (defensin) ستكون آمنة وفعالة بشكل كاف لتستحق التطوير أبعد من الاستعمال الموضعي (حيث السمية الجهازية تخفف بواسطة طريقة الإعطاء).

أنتجت المجموعة الثانية من الببتيدات ذات فعالية المضاد الحيوي بواسطة البكتيريا الموجبة -لغرام وتم تصنيفها بلانتيبيوتيكس (lantibiotics) ؛ لأن جميعها تحتوي على ثيوإثر غير اعتيادي - مزدوج الرأس - يحتوي على حامض أميني لانثيونين (double-headed thioether-containing amino acid lanthionine) (الشكل ٦.٧ A) أو بيتا-ميثيل لانثيونين المماثل (/β-methyle lanthionine). وهذه ببتيدات منتجة بواسطة الريبوسوم والمعدلة بعد الإدخال لجسور ثيوإثر-العابرة (thioether cross-bridges) (الشكل ٦.٧ B)، ومن ثم تنفلق لتزيل إشارة تعاقب N-terminal (انظر هانسن 1997، Hansen، للمراجع، جاك وآخرون 1995، Jack *et al.*) (انظر الفصل الرابع عشر للبناء الحيوي للانتيبيوتك).



الشكل (٦.٧). (A) لانثيونين وميثيل لانثيونين، المكونات الأساسية لببتيدات لانتيبيوتك، (B) جسور رابطة - عابرة في نيسب لانتيبيوتك.

تعتبر مضادات لانتيبيوتك A (type A lantibiotics) ببتيدات كتيونية ذات تركيب هندسي لولبي، مطول من كلا الجانبين، amphiphilic، الذي يغرس داخل الأغشية ويعمل كموامل نازعة للاستقطاب (depolarizing agents) كالبيبتيدات غير الريبوسومية التي تم ذكرها أعلاه. وعلى العكس، تعتبر أنواع B لانتيبيوتك (type B lantibiotics) ببتيدات كروية متضامة (compact, globular peptides) (انظر الشكل ٦.٨ لتركيب ميرساسيدين، و Z (mersacidin and nisin) يكون معقد مع الدهن II (الفصل الثالث)، بالرغم من أن تفاصيل ذلك التفاعل لم يتم معرفتها. وبالمثل فضالة (بقية) ١٩ اكتيجارد (19 residue actigardin) تعرقل البناء الحيوي لجدار الخلية ربما عند مراحل الدهن II / I.



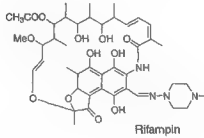
الشكل (٦، أ). (أ) التركيب الأولي وثلاثي الأبعاد لميرساسيدين (من شيدر وآخرون، ٢٠٠٠) و (ب) الدهن II الجزئي الهدف.

مجموعة من مضادات الببتيد المكونة الغنية بالبرولين، التي عزلت أساساً من الحشرات يعتقد أن تكون قد أخذت بواسطة مضخات ناقلة ببتيذ المصدرة إلى داخل السيتوبلازم البكتيري وتتفاعل مع أهدافها النهائية داخل الخلايا البكتيرية. أحد هذه الببتيدات، بيهوكوريسين (pyrrhococcin) (كراجول وآخرون 2001 Kragol *et al.*)، هو ٢٠-فضالة الببتيد الخطي (20-residue linear peptide) تم إضافة السكريات له (glycosylated) على ثريونين واحد (threonine) بواسطة الحشرات المنتجة. ولا يتطلب وجود السكر للفعالية المضادة للمكروبات وقد تبين أن ٢٠-فضالة الببتيد يرتبط مع 70-kDa بروتين الصدمة الحرارية البكتيري شابرون DnaK (70-kDa bacterial heat shock chaperone protein DnaK) لللاشريكية القلونية ويعرقل فعالية إنزيم ATPase. وهذا يقطع طية وفعالية شابرون لـ DnaK. ولقد افترض كراجول وآخرون 2001 Kragol *et al.*، أن بيهوكوريسين والببتيدات الغنية بالبرولين ذات العلاقة مثل دروسوسين (drosocin) وأبيداسن (abidaecin) تقتل البكتيريا بواسطة عرقلة فتح وإغلاق الغطاء الحلزوني لجيب DnaK المرتبط، الضروري لطلي البروتينات في جيب شابرون الرابط. وهناك جدل حول تصميم الببتيدات المضادة للمكروبات النوعية السلالة والببتيدات المشابهة معتمداً على التعاقبات المختلفة لـ DnaK في المُمرضات المستهدفة.

#### الريفاميسينات (Rifamycins) في الدرن (السل)

الريفامبين (ويعرف كذلك بالريفامبيسين) هو نسخة شبه مصنعة للريفاميسين B (rifamycin B) (الشكل ٦٩)، المنتج الطبيعي لصنف المضاد الحيوي أنساميسين (ansamycin)، المعزول أساساً من الشعبة المعروفة للتسلسلة المتوسطة

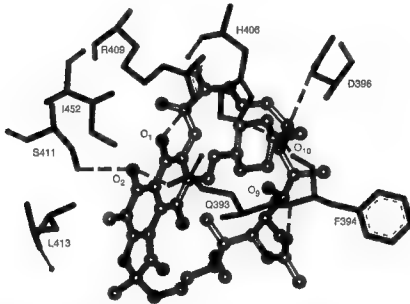
(*Streptomyces mediterranei*) والتي صُنفت مؤخراً بالنوكارديا المتوسطة (*Nocardia mediterranea*) (لانسينسي Lancini, 1983). ويعني اسم أنسا (ansa) (مقبض) (handle) مشيراً إلى سلسلة دهنية (aliphatic chain) التي تشغل بين مراكز التوصيل غير المتجاورة على هيكل نفثالين (naphthalene) المُستبدل.



الشكل (٩، ٦). تركيب دواء الريفاميسين من عائلة الريفاميسين المضاد للدرن.

ويُستعمل الريفاميسين سريراً فقط كجزء من توليفة النظم لقتل المُمرضة المتفطرة السلية (*Mycobacterium tuberculosis*) بطيئة - النمو. والدواء يعتبر مبطّل لأنزيم رنا بوليميراز (RNA polymerase)، الوحيد في الاستعمال السريري لمرحلة الإنتساخ البكتيري (bacterial transcription). وحافز البلمرة رنا البكتيري لب رباعي (core tetramer) من الوحدات الفرعية  $\alpha\beta\beta'$  والوحدة  $\sigma$  الفرعية القابلة للتفكك التي توجه لب البوليميراز ليتسخ صنف معين من الجينات. وبإمكان عوامل  $\sigma$  المختلفة أن تظهر في البكتيريا تحت ظروف نمو مختلفة كآلية واحدة لاستهداف حافز البلمرة اللب لإنتساخ وحدات فرعية متميزة من الجينات. ويرتبط الريفاميسين بالوحدة الفرعية  $\beta$  لأنزيم رنا حافز البلمرة عند الموقع التجسيمي المتباين (allosteric site) وليس عند الموقع النشط (كامبل وآخرون 2001، Campbell *et al.*) كما حُدّد بواسطة الطفرات المقاومة في العزل السريري للمتفطرة السلية والمتفطرة الجذامية (*M. leprae*) (سبرات 1994، Spratt، توني وآخرون 1998، Toney *et al.*). ومؤخراً تم تحديد تركيب أشعة-إكس لثيرمس المائية (*Thermus aquaticus*) (Taq) لب حافز البلمرة رنا، معقد  $\alpha\beta\beta'$  400-kDa، مع الريفاميسين المرتبط (كامبل وآخرون 2001، Campbell *et al.*) (الشكل ٦، ١٠). وتمت المصادقة على أن الريفاميسين يثبط مباشرة سلسلة رنا المطولة بواسطة الإرتباط في نفق دنا / رنا DNA / RNA للوحدة الفرعية  $\beta$ ، بحوالي ١٢ Å بعيداً من موقع البلمرة للريبونوكليوسيد ثلاثي الفوسفات (ribonucleosides triphosphate) الوارد. ويرتبط الريفاميسين بواسطة تفاعلات السلسلة الجانبية رهابية الماء (hydrophobic side chain) نحو فضالات الوحدة الفرعية  $\beta$  وبواسطة روابط الهيدروجين نحو مجموعات -OH الأساسية عند المواضع ٢٠١، ٩ و ١٠ للمضاد الحيوي. ويُظهر الشكل كيف أن تثبيط تطويل RNA بواسطة الارتباط مع الريفاميسين يثبط انتقائياً التطوير عند مرحلة ثنائي أو ثلاثي نوكليوتيد (di- or trinucleotide stage). للعزل السريري

من المتفطرة السلية المقاومة للريفاميسين طفرات عند فضالات الوحدة الفرعية  $\beta$  التي تميز الريفاميسين، بحوالي ثلاثة أرباع المقاومة الناشئة من الطفرات في السلاسل الجانبية للفضالات ٤٠٦ و ٤١١ (سبرات 1994, Spratt). يعتبر تطور المقاومة سريع نسبياً إذا استعمل الريفاميسين كعامل معالجة وفرد (هيب وآخرون 2000, Heep *et al.*)، مما يفسر أحد أسباب ت المعالجة التوليفية المستعملة للدرن (انظر الفصل الحادي عشر لتشولار وبرات 2000, Scholar and Pratt). إن ٥٠٪ التركيز المثبط (50% inhibitory concentration) ضد حافز البلمرة رنا المتفطري هو في حدود 0.005 إلى 0.1 ميكروجرام / مل كما أن حوافز بلمرة رنا لسويات النواة تبلغ على الأقل ١٠٠ - طية أقل حساسية.



الشكل (١٠، ٦). موقع الربط للريفاميسين على البروتين المستهدف، الوحدة الفرعية  $\beta$  لحافز بلمرة رنا. (من كامبل وآخرون 2001, Campbell).



## المقاومة للمضاد الحيوي ANTIBIOTIC RESISTANCE

يبحث الباب الثالث المقاومة للأدوية المضادة البكتيرية التي تمت مناقشتها في القسم الثاني. يعرض الفصل السابع موضوع المقاومة في المكروبات المنتجة - للمضاد الحيوي التي يجب أن تكون قد طورت آليات حماية ذاتية لتجنب التدمير الذاتي أثناء إنتاج المضاد الحيوي. والآليات الهامة الداخلية الثلاثة في متجني المضادات الحيوية هي: (١) تعطيل نشاط المضاد الحيوي، (٢) تدفق المضاد الحيوي، و(٣) تحويل الهدف الجزيئي الحساس. وهذه الآليات تندر المقاومات التي تكتسب عندما تصبح الممرضات البكتيرية مقاومة. ويتناول الفصل الثامن تعطيل نشاط المضادات الحيوية في نطاق كل من التحلل المائي للبيتا- لكتام والتعديل التساهمي للأمينوغليكوسيد. ويفصل الفصل التاسع عوائل من مضخات التدفق (efflux pumps) الموجودة في الممرضات. ويشرح الفصل العاشر التعديلات على البروتين في البروتينات - المرتبطة بالبنسليين التي تقع تحت النمط الظاهري للمكورة العنقودية الذهبية المقاومة للميثيسيلين (MRSA)، ومثيلة 23S Rma (methylation) المنتشر في مقاومة الإريثروميسين، وإعادة برمجة وسائط الببتيدوغليكان في المقاومة للفانكوميسين.

البكتيريا	حالات الوفيات	% العزل المقاوم لـ	الميثيسيلين	الفانكوميسين
المكورة المتفودية السالبة - للكواجيرلين	٪٢١	٪٨٠	-	-
المكورة المتفودية الذهبية	٪٢٥	٪٣٠	-	-
المكورة المعوية البرازية	٪٢٥	-	٪٢٠	-

ورود وخطورة المداوى المقاومة للميثيسيلين والفانكوميسين - لم تحدد.





## المناعة الطبيعية والمنتجة مقابل المقاومة المكتسبة

### NATURAL AND PRODUCER IMMUNITY VERSUS ACQUIRED RESISTANCE

أثناء الخمس إلى ستة عقود التي مافشت فيها المضادات الحيوية تنسج للعلاج، والتي تبعها تطوُّر المقاومة للمضادات الحيوية. والملاحظة التاريخية وهي أنه كلما أدخل مضاد حيوي جديد، أشكال أوسع- المدى من المضادات القائمة، أو صنف جديد من المضادات الحيوية للاستعمال الواسع بين الناس، تظهر المقاومة الممتدة سريريًا. وربما تكون في غضون شهر (اكتشفت المقاومة للبنسيلين في وقت مبكر مثل ١٩٤٥م) وقد تستغرق سنوات: المقاومة للفانكوميسين أخذت ما يقارب ٣٠ سنة (١٩٨٧م) بعد الإدخال السريري (١٩٥٤م). والتأخير الطويل ربما كان بسبب الاستعمال المحدد للفانكوميسين في السنوات الخمس وعشرون الأولى، ولكن عند تقديمه لخط المعالجة الأممي، ظهرت المقاومة. وكذلك وكما سنلاحظ في الفصل العاشر، بينما المقاومة السريرية المعتدة لمضادات الليبتالكلام قد تحدث من خلال عمل أحد منتجات الجين، فإنزيم البيتالاكتاماز الحال بالماء (hydrolytic  $\beta$ -lactamase)، النمط الظاهري للمكورة المعوية المقاومة للفانكوميسين (vancomycin-resistant enterococcus (VRE) phenotype) يتطلب وجود كاسيت (حافظة) (cassette) خمس -جينات ليتم تجميعها. وتستطيع فاشيات المقاومة أن تكون مبعثرة جغرافيًا ولجميع أصناف المضادات الحيوية الهامة. يبين الشكل (٧.١) خارطة الفاشيات في الولايات المتحدة خلال فترة ١١ سنة من ١٩٨٣ - ١٩٩٤م للممرضات المقاومة لكل من البنسيلين والكيفالوسبورين، للفلوروكوينولون السبروفلوكساسين، إلى الماكروليد الإريثروميسين، وإلى الجليكوكوبيبتد (الببتيد السكري) الفانكوميسين. وأنماط مماثلة استمرت منذ ١٩٩٤م، كما سنلاحظ في الفصل السابع عشر.

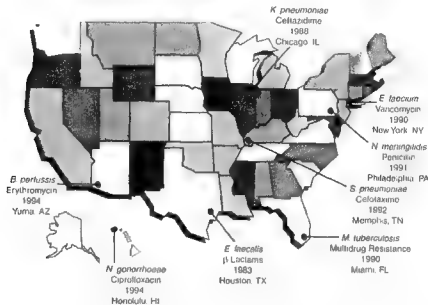
البكتيريا المقاومة - المضادات الحيوية تم انتقاؤها في بيئات المستشفى أسرع بكثير من المجتمع الخارجي. يوجد في المستشفيات أساساً تعرض مركز وثابت للبكتيريا للمضادات الحيوية. وفي هذه البيئات الدقيقة يوجد ضغط انتقائي (selective pressure) للبكتيريا المقاومة للمضاد الحيوي للمحافظة على هذه المحددات، للبقاء، وحتى لتسود الجهمرة البكتيرية. ففي الجهمرة البكتيرية الكبيرة، مثلاً<sup>٨</sup> ١٠، التي تعرضت للدواء، يوجد تنافس موت جميع البكتيريا وتطوُّر الطفرات النادرة التي تحدث المقاومة. وإذا أخذنا زمن التكرار القصير لانقسام البكتيريا (يلغ أقصر حد من ٢٠ - ٣٠

دقيقة) والتكرار النوعي لخطأ واحد لكل  $10^7$  قواعد كلما نسخ بوليميراز DNA polymerase واحد دنا، وبعد ذلك فإن ١٠٠ مليون بكتيريا سوف تحتوي على حوالي ١٠ طفرات في الجمهرة. فإذا تفرقت هذه الطفرات عشوائياً في مجين البكتيريا بحجم الإشريكية القولونية، ذات ٣٠٠٠ جين، بعد ذلك  $0.3/ (10^3/3000)$  من الجينات سوف يكون لديها طفرة واحدة. وإذا كان أحد طفرات هذا الجين في الهدف للمضاد الحيوي والطفرة سوف تحدث بعض درجة من المقاومة التي تجعل البكتيريا أقل حساسية، وعلى إثر ذلك سوف يكون لديها ميزة البقاء الانتقائي (selective survival). ويموت جيرانها الحساسين، فسوف تبقى ويكون لها مكان للنمو وتوسد المستنبت (المزرعة) وقد تنتشر بفعالية.

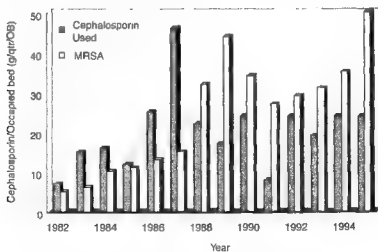
إضافة إلى النشوء المستقل لطفرات النقطة (point mutations) لتكوين جينات مقاومة، هذه الجينات تستطيع أن تتجمع على عناصر دنا قابلة للانتقال (الترانسبوسونات) (البنقولات) (transposons)، التي تعد عناصر جينية متحركة التي تستطيع أن تنتقل بين عناصر تعاقب الـ دنا على كل من عناصر متحركة أكبر (البلازميدات) (plasmids) وعلى الكروموسوم البكتيري (بنقولات اقترانية) (conjugative transposons) (انظر ويتلي وآخرون 2001، Whittle *et al.*). وهكذا فالجين المسئول عن النمط الظاهري VanA لمقاومة الفانكوميسين يوجد بشكل نموذجي على البنقول المرسخ في البلازميد في خلايا VRE. وبشكل مماثل، غالباً البيتالاكتاماز TEM-1 ما يُحمل بواسطة البنقول TN3 (أميز، Amyes 2001). تستطيع عناصر البلازميد بحجم دنا أن تندمج داخل مواقع ارتباط معينة على الكروموسومات لتكوين جزر مقاومة للمضاد الحيوي، كالوجود في السالونيلا المعوية ضرب تيفيموريوم (*Salmonella enteric serovar Typhimurium*) (الفصل السابع عشر) والمكورة العنقودية الذهبية المقاومة للمثسلين (MRSA) (هذا الفصل). وهذا يسمح بالمحافظة على العديد من جينات المقاومة معاً. وجميع هذه الطرق تساعد على الانتشار السريع والمحافظة الثابتة لمجموعات الجينات المقاومة للمضاد الحيوي خلال جمهرة البكتيريا. ولقد وصفت (جين وآخرون 1999، Jain *et al.*) الانتقال الأفقي المكثف للجين بأنه هو عملية مستمرة في البكتيريا.

السلالات المقاومة سوف تستمر لأن تكون منتقاة بواسطة الوجود المستمر للمضاد الحيوي في البيئة الدقيقة، مثال، في جناح المستشفى. يُظهر الشكل (٧.٢) علاقة واضحة ومؤقتة على فترة ١٢ سنة بين استعمال الكيفالوسبورينات ونشوء MRSA (هيراماتسو وآخرون 2001، Hiramatsu *et al.*). وبإمكان هذه التأثيرات أن تحدث كذلك في فترة زمنية مضغوطة. فعلى سبيل المثال، يعطى المريض النوم للجراحة مضادات حيوية للتوقية ومن ثم الأيام قليلة بعد الجراحة لتقليل من احتمالية المضاعفات العدوائية. ودراسة تاريخ التوزيع الأنفي في مثل هؤلاء السكان من المرضى (الشكل ٧.٣)، أشارت أنه في رحلة الانتشار يحتوي حجم الجزء المكافئ المعطى على  $10^6$  من بكتيريا المكورة العنقودية الذهبية، أساساً جميعها حساسة للمثسلين (MSSA) (تشتيناج وآخرون 1998، Schentag *et al.*). ويعقب الجراحة والمعالجة بواسطة كيفازولين (cefazolin) (نوع من الكيفالوسبورين)، ٩٠٪ من المرضى كانوا أرسلوا إلى البيت بعد يومين بعد الجراحة، وبدون مضاعفات عدوائية. وكان العد الأنفي البكتيري أقل بـ ١٠٠ - طية إلى  $10^7$  وكان خليط من المكورات العنقودية الحساسة، المقاومة - الحدية (borderline) والمقاومة. وللمرضى الذين مازالوا في

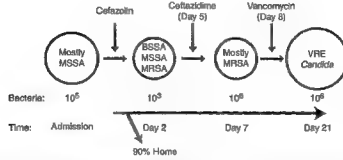
المستشفى وكانوا تحولوا في اليوم الخامس إلى كيفالوسبورين آخر (سيفتازديم) (cefazidime)، فعندما تمت المقايسة في اليوم السابع، كان قد ارتفع العد البكتيري أعلى من  $10^3$  طية إلى  $10^6$  وكان معظمها MRSA. هؤلاء المرضى قد تم تحويلهم بعد ذلك إلى كورس فانكوميسين لمدة أسبوعين، ولهؤلاء الذين ما زالوا في المستشفى في اليوم ٢١، أظهر التزريع الأنفي  $10^6$  VRE وبعض المبيضة (*Candida*). وبسبب الزمن القصير لانقسام البكتيريا، فالانتقاء - لمقاومة الدواء، والمُمرضات - المهددة للحياة قد يكون سريع وبشكل بارز.



الشكل (٧، ١). الفاشية الحديثة للبكتيريا - المقاومة للمضاد الحيوي في الولايات المتحدة خلال فترة ١١-١٩٨٣-١٩٩٤م



الشكل (٧، ٢). زمن تطور المقاومة للكيفالوسبورين بواسطة MRSA.



الشكل (٧،٣). تقدم الجُمهرة البكتيرية في مرضى الجراحة من MSSA إلى MRSA إلى VRE في ثلاثة - أسابيع فترة زمنية محددة. (بالإذن من تشنتاغ وآخرون 1998, Schentag *et al.*).

وبالرأي السابق الذكر، تعدُّ المقاومة البكتيرية للمضاد الحيوي ليست موضوع "إذا" ولكن فقط موضوع "متى". وهذا المنطق بأنه سيكون هناك حاجة ثابتة دورات من اكتشاف وتطوُّر مضادات حيوية جديدة. وبمجرد إدخال المضاد الحيوي للاستعمال السريري الواسع الانتشار، فإن انتقاء الكائنات المقاومة سوف يبدأ والفترة العلاجية المحدودة سوف نحدث قبل أن تصبح مقاومة المُمْرُض واسع الانتشار بشكل كافٍ لتقلل فعالية ذلك الدواء. بعد ذلك سيكون هناك حاجة للجيل التالي (مثال، نحن عند الجيل الرابع للكيفالوسبورينات والجيل الثالث من الإريثروميسينات) أو أصناف جديدة كاملة من المضادات الحيوية. وهذا يفسر أكثر بقائمة البكتيريا في الجدول (٧،١) المقاومة لأصناف مختلفة من المضادات الحيوية المستعملة سريرياً. وتتوفر المراجعة الحديثة للطرق لتقييم المقاومة الميكروبية بواسطة كوكريل (Cockerill, 1999).

والعديد من المضادات الحيوية التي تم تطويرها إلى أدوية مضادة للبكتيرية مَبْنِيَّة تراكيز دنيا مبشِطة (MICs) أو في بعض الأحيان تراكيز ٥٠٪ مبشِطة، وغالباً في مقاييسات أطباق بتري (Petri plate assays)، في حدود ١ ميكروجرام / مل. وللمضادات الحيوية ذات الأوزان الجزيئية أقل من ٥٠٠ جرام / مول، سيكون ذلك في نطاق تركيز ٢- ميكرومول، وعلى سبيل المثال، فإن ٥٠٪ التراكيز المبشِطة للأوكسازوليدينون (oxazolidinones) للكائنات الحساسة تكون في نطاق ١-ميكروجرام/مل، بينما تراسيكلين MIC حول ٠.١ ربما يكون نموذجياً. وغالباً ما يكون MIC للفانكوميسين في نطاق من ٠.١ - ٠.٥ ميكروجرام/مل، و MIC للكوتونولونات مثل السيبروفلوكساسين أقيده أنه في نطاق من ٠.٠٥ - ٠.٥ ميكروجرام / مل للكائنات الحساسة. وربما يكون MIC للميكروليدات من عائلة الإريثروميسين في نطاق ٠.٠١ - ١ ميكروجرام / مل. ولقد تُرجمت القوى إلى نقاط جرعات لمعالجة مفيدة لمعالجة العدوى في الإنسان. وكما أن البكتيريا تطوُّر محدَّدات وآليات لمقاومة المضادات الحيوية، فعندما يصل أو يتعدى MIC ٨ ميكروجرام/مل، قد يصنف الكائن كمقاوم متوسط (معتدل). والكائنات التي لها MIC أعلى من ٣٢ ميكروجرام/مل عموماً تعدُّ مقاومة سريرياً للمضاد الحيوي.

الجدول (٧، ١). المقاومة البكتيرية لمختلف أصناف المضادات الحيوية المستعملة سريريا.

المضاد الحيوي	الصف التركيبي	الهدف	الظفرة/ بلازميد	تدفق	مسام	تعطيل النشاط	تغيير الهدف
أميسيلين	بنسيلين	E	+ / +	✓	✓	✓	✓
سيفترياكسون	كيفالوسبورين	E	+ / +	✓	✓	✓	✓
إميبينيم	كارباينيم	E	+ / +	✓	✓	✓	✓
فوسفومييسين	حامض الفوسفوريك	E	+ / +		✓	✓	
جنتاميسين	امينوغليكوسيد	R	+ / +	✓		✓	✓
كلورامفينيكول	فيتيل بروبانونيد	R	+ / +	✓		✓	✓
تراسيكين	بوليكيتيد (II)	R	+ / +	✓		+	✓
إريثروميسين	ماكروليد	R	+ / +	✓		✓	✓
كلنداميسين	لينكوساميد	R	+ / +			✓	✓
سنتيسيد	سنتيتوجرامين	R	+ / +	✓		✓	✓
تليثروميسين	كينوليد	R	+ / +	✓		✓	✓
سبروفلوكساسين	فلوروكوينولون	D	+ / +	✓			✓
فانكوميسين	غليكوببتيد	E	+ / +				✓
سلفيسوكسازول	سلفوناميد	M	+ / +				
تراميثوبريم	-	M	+ / +				
ريفامبين	أنساميسين	P	+ / +			✓	✓
حامض الفلويوسيدك	ستريوليد	T	+ / +	✓			✓
لينيزوليد	أوكسازوليدينون	R	+ / -				✓
نوفوفويسين	كومارين	D	+ / +				✓
أيزونيايد	-	M	+ / -				
بيرازيناميد	-	M	+ / -				
نيتروفورانتوين	نيتروفوران	M	+ / -			✓	
بوليميكسين	بيتيد	E	+ / -	✓			✓
كابريوميسين	بيتيد	R	+ / -			✓	✓
ميوفيروسين	حامض السدومونيك	T	- / +				✓

D: تكرار، E: غلاف، M: أبيض، P: حافز البلمرة RNA، R: ريبوسوم، T: ترجمة، -: صنف تركيبي غير معياري.

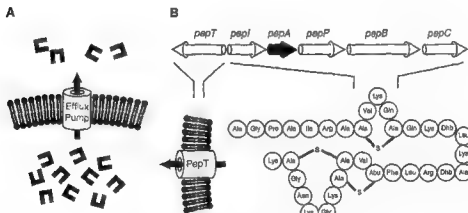
مقتبسة من ملصق عن آليات عمل ومقاومة المضادات الحيوية، سي. والش. جاي. تروجر، بي. كورفالين، جاي. ديفيس (٢٠١١)، اتجاهات في الأحياء الدقيقة، لانسيت للأمراض المعدية (The Lancet Infectious Disease)، الرأي الحالي في الأحياء الدقيقة (Current Opinion in Microbiology)، اتجاهات في الطب الجزيئي (Trend in Molecular Medicine).

### كيف تقلت منتجات المضادات الحيوية من تدمير نفسها؟

لقد لاحظ كثير من المراقبين أن منتجات المضادات الحيوية يمكن أن تكون عرضة لأسلحتها الكيميائية المدمرة ويجب أن تكون قد وضعت إستراتيجيات لحماية ومناعة نفسها. وقد أدى ذلك إلى المبدأ العام بأن الجينات الخاصة

بمقاومة المضادات الحيوية والآليات يجب أن تكون قد تطورت بالمشاركة مع القدرة على التصنيع الحيوي للمضاد الحيوي في الوقت المناسب فقط خطوة الحماية الذاتية. وفي القسم التالي من هذا الفصل سوف نفحص بعض الأمثلة التي تسلط الضوء على آليات الحماية الذاتية المختلفة التي تعمل مع البكتيريا المنتجة للمضاد الحيوي والتوقيت الذي يفتح الحماية عندما يتم الاستعداد لإنتاج المضاد الحيوي.

وكقاعدة عامة، على الرغم، فإن المضادات الحيوية المنتجة طبيعياً تصنع بواسطة الآلات الإنزيمية داخل الخلايا البكتيرية والمضادات الحيوية الناضجة هي جزيئات مُفرزة. وعتاد كل منتجات المضادات الحيوية تقريبا التي تم فحصها تشمل واحداً أو أكثر من مضخات بروتين خلال الغشاء (transmembrane protein pumps) ويفترض أن تكون مكروسة لضخ المضادات الحيوية للخارج بمجرد صنعها وقبل أن تتراكم إلى تراكيز ضارة داخل الخلية المنتجة (الشكل ٧.٤ أ). وعندما يتم تعاقب (تسلسل) مجموعة من جينات المضاد الحيوي، عادة ما نجد الجينات التي تُرمز (تُشفّر) مثل مضخات تصدير المضاد الحيوي هذه داخل المجموعات الناسخة، لتضمن تنسيق إنتاج مضخات التصدير بمجرد التلف المضادات الحيوية بعيداً عن خطوط التجميع الإنزيمية (الفصلان الثاني عشر والثالث عشر). في مجموعة *Pep* لانتى بيوتك، يرمز *PepA* طليعة ببتيد المضاد الحيوي ويرمز *PepT* المضخة. وقد يكون عديد من المراحل المتأخرة لتجميع المضاد الحيوي، مثال ذلك، معقد البروتين الذي يصنع بروتينات لانتى بيوتكس (بروتز وسهل Brotz and Sah, 2000) (الشكل ٧.٤ ب)، يقترن جسدياً في الغشاء إلى المضخات بحيث أن تصنيع المضاد الحيوي وتوجيه التدفق من السيتوبلازم البكتيري يقتربا حركياً.



الشكل (٤، ٧): رسوم تخطيطية لمضخات بروتين تدفق المضاد الحيوي: (A) مخطط عام، (B) وظيفة مضخات تدفق مضادات لآلتي بيوكس.

إن وجود جينات في منتجات المضادات الحيوية التي توفر مقاومة داخلية أو مناعة ذاتية توفر كذلك مخازن كاملة لهذه الجينات التي ستكون مكتسبة، من خلال مختلف آليات نقل الجين، بواسطة البكتيريا الموجودة في

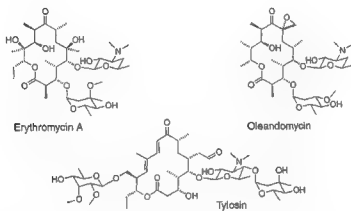
الأهداف المقصودة من المضادات الحيوية. وبالنظر في مخازن الجينات المقاومة، فمختلف البقوليات وغيرها من العناصر الجينية المتحركة التي تعمل كأدوات نقل، والضغط الانتقائي للبكتيريا للبقاء في البيئة الدقيقة - الغنية بالمضاد الحيوي بمجرد أنها اكتسبت جينات المقاومة، فإنه من المتوقع أن سرقة هذه الجينات سيكون طريق مشترك لاكتساب المقاومة. وسوف نرى ذلك مثلاً بوضوح وخاصة عند مقارنة خطة الحماية الذاتية في منتجات مضادات الغليكوببتيد الحيوية والآلية التي تصبح بها المكوّنات المعوية المُمرّضة مقاومة للفانكوميسين (VRE).

### الحماية الذاتية في منتجي الميكروبيد

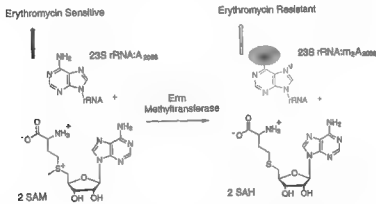
تنتج التسلسلات (Streptomycetes) معظم مضادات الميكروبيد الحيوية المستندة على البوليكتيد (polyketide-based)، وتشمل الإريثروميسين، وحلقة العضوية- ١٤ ذا العلاقة ميكروبيد أولياندوميسين (14-membered ring)، و macrolide pleandomycin) وحلقة العضوية- ١٦ تيلوسين المُناظر (tylosin homolog) (الشكل ٧،٥)، وكذلك انظر الجدول ١١،١). يختلف أولياندوميسين عن الإريثروميسين في التعديل الإنزيمي للموضع  $C_6-CH_3$  إلى الإيبوكسيد (epoxide). وقد تم وصف ثلاث إستراتيجيات للمقاومة الذاتية في منتجات الميكروبيد وآليات الإنذار للمقاومة المكتسبة في ممرضات الإنسان. التعديل الأول، بواسطة عمل الترادف لميثيل ترانسفيراز Erm (Erm methyltransferase) من المجموعة الأمينية خارجية الحلقة (exocyclic amin group) من أحد فضالات الأدينين (adenine residue)،  $A_{2058}$ ، في 23S RNA، في الميثلة الأحادية، أو الثنائية (الميثلة الأحادية أو الثنائية mono- or dimethylation). وهذه الميثلة -N-methylation) تتعارض من ربط الإريثروميسين مع ذلك الموقع عالي- الانجذاب على الريبوسوم 50S (الشكل ٧،٦)، انظر كذلك الفصل الرابع). وتوجد آلية المقاومة هذه في منتجات الإريثروميسين وتيلوسين (فيرو وآخرون 1987، Fierro *et al.*، كويروس وآخرون 1889، Quiros *et al.*) ولكن ليس في منتجات أولياندوميسين. الآلية الثانية هي إظهار بروتينات النقل لتصدير - الميكروبيد، المدعومة بالتحلل المائي لـ ATP وتعرف بالكاسيت الرابط لـ ATP (ATP-binding cassette) من نوع البروتينات (ABC). والتأكد من وظيفة ضخ التصدير تأتي من زيادة إظهار (overexpression) لبروتينات (ABC) وزيادة المقاومة للإريثروميسين، التي تمت مناقشتها أيضاً في الفصل التاسع.

الآلية الثالثة للمقاومة الذاتية، والتي تم فك شفرتها بواسطة سالاس (Salas) وزملائه (كويروس وآخرون 1998، Quiros *et al.*) في التسلسلة أنتيبايوتكس (*Streptomyces antibioticus*) المنتجة للأولياندوميسين، المشاركة في التعديل الإنزيمي في نهاية مسار البناء الحيوي لتبقي الميكروبيد في الشكل غير الفعال بينما ما تزال في داخل الخلية. القطعة المتممة لهذا الرسم الرائع لحماية - الذات هي أنه بمجرد أن يفرز الميكروبيد فإنه يجري نحو الإنزيم خارج الخلية والتي بدورها تحوله إلى شكله الفعال. مجموعة الحماية العابرة هي مجموعة غلوكوزيل (glucosyl group) مشفرة بواسطة إنزيم غلوكوزيل ترانسفيراز (glucosyltransferase)، *oleT*، داخل مجموعة جين أولياندوميسين.

ويظهر الشكل (٧,٧) أن OleI جلوكوترانسفيريز يستعمل UDP- غلوكوز وغلوكوزيلات  $C_2$ -OH من سكرديسوسامين (desosamine suage) المرافق لـ  $C_3$  للماكرولاكتون (macrolactone) في منطقة محددة. والماكروليد الناتج، الموجود الآن مع ديسوامينيل - ٢,١ غلوكوز ثنائي السكريد (desosaminy-2,1-glucose disaccharide) عند  $C_3$ ، يعتبر غير فعال كمضاد حيوي؛ بسبب أن شطر غلوكوزيل (glucosyle moiety) التي تم إدخاله يعرقل الربط مع الوحدة الفرعية 50S للريبوسوم. وهذا لن يحدث ضرراً لخلية المتسلسلة انتيبوتيكس المنتجة، حتى لو تراكتت إلى مستويات سامة قبل أن يتم ضخها خارجاً بواسطة نوع مضخة- ABC، البروتين OleB.



الشكل (٧,٥). تراكم مضادات الميكروبيد الحيوية الإريثروميسين A، أولياندوميسين، وتيلوسين.

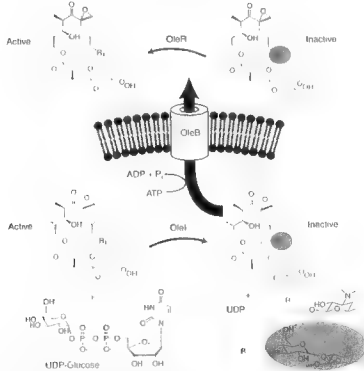


الشكل (٧,٦). الأمثلة الأحادية - والتالية الإبرمية لـ A2058 في 23S rRNA في اللقاومة للإريثروميسين. SAM، إيس - أدينوسيل ميثونين، SAH، إيس - أدينوسيل هوموسيتين.

ومن ناحية أخرى - فهذا الميكروبيد المحتوي على سكر - ثلاثي، حتى لو تم شحنه خارجاً، فهو كذلك غير سام لأي من البكتيريا المجاورة. ولإعادة تفعيل الخواص المضادة الحيوية للجلوكوسيل ~ أولياندوميسين الكامن



هذا، فسوف نفرز المتسلسلة أنتيبوتوكس كذلك غليكوسيداز (glycosidase) وهو ناتج جين *oleR* (كوبروس وآخرون 1998، Quiros *et al.*)، والذي الآن يزيل الغلوكوز بالتحلل المائي (hydrolytically) وينتج شكل أولياندوميسين القادر على أن يرتبط مع 50S ريبوسوم (الشكل ٧.٧). ويبدو أن آلية الشرك (decoy mechanism) هذه لا تتبع بواسطة سكاروبوليسبورا إريثري (*Saccharopolyspora erythraea*)، على الرغم من أن إنزيم EryBI يعد مشابه OleR، مما يوحي بأنه في وقت واحد، إستراتيجية الارتباط بالغليكوزيل (glycosylation) (في الداخل) ونزع الغليكوزيل (deglycosylation) (في الخارج) قد تكون في العمل في بعض مراحل التطور للمتجين للإيرثروميسين، وربما قبل أن تصبح مضخات التصدير الأمثل أو أن تتطور إستراتيجية مثيلاز rRNA (rRNA methylase)، التي توجد في *S. erythraea* وليس في *S. antibioticus*. إحدى المميزات الأخيرة الملاحظة في حماية الذات في *S. antibioticus* هو أن مضخة OleB نقل / تدفق (OleB transport / efflux pump) سوف تضخ غليكوزيل - أولياندوميسين للخارج. كما أنه لم يحدد إلى الآن ما إذا كان OleB قليل الأولياندوميسين نفسه، بمجرد أن نزع الغليكوزيل (deglycosylated) في الوسط خارج الخلية بواسطة OleR. كما أن الانجذاب الأقل لإعادة امتصاص الأولياندوميسين من شأنه يؤثر على التدفق الصافي لنظام الضخ ليرسل غليكوزيل - أولياندوميسين خارج الخلية.



الشكل (٧،٧). الإستراتيجية للحماية - الذاتية بواسطة متنجي الأولياندوميسين. ارتباط بالغليكوزيل داخل الخلية إلى طليعة أولياندوميسين غير - فاعل بواسطة OleB، التصدير بواسطة مضخة OleB، وإعادة التفعيل بواسطة غليكوسيدات OleR.

يتعين الانتظار لنرى كيف يكون حجب المضادات الحيوية داخل الخلية عاماً بواسطة الارتباط بالغليكوزيل (glycosylation) أو التعديل التساهمي آخر. وهناك إشارة بأن وسائط خارج - المسار في مسار البناء الحيوي للمضاد الحيوي باهليميسين غليكوبيبتيد (bahlmicyin glycopeptide) هي glycosylated في ما قد يكون مراقبة وظيفية وقائية (بيشوف وآخرون 2001, Bischoff et al.). وكما سيتم شرحه في الفصل الرابع عشر، يوجد منطق للمشابهة في منتجي إسترثوميسين حيث يكون إسترثوميسين داخل الخلية غير فاعل بسبب الفسفرة (phosphorylation) التي تُزال إنزيمياً بعد التصدير.

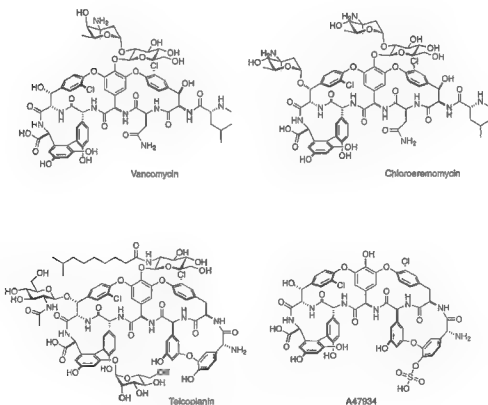
### الحماية - الذاتية في منتجي أمينوكومارين (aminocoumarin)

في البناء الحيوي لمضادات أمينوكومارين الحيوية المستهدفة - للجيريز (الفصل الخامس)، من المرجح أن حلقة كومارين قد تكون تولدت نسبياً مبكراً في مسار البناء الحيوي (انظر الفصل الرابع عشر)، ولذلك فإن العديد من الوسائط في الطريق إلى نوفوبيوسين (novobiocin) من الممكن أن تكون مثبطات كامنة للإنزيم المستهدف، دنا غايراز. ولقد تم اختبار التسلسلات المنتجة للحساسية لدنا غيراز وتم ملاحظة المقاومة الداخلية. كما أن خريطة المحددات للوحدة الفرعية GyrB من المحتمل أن تكون طفرات موقع ربط ATP المديدة والتي تضعف الحساسية الموقع لربط نوفوبيوسين (تساي وآخرون 1997, Tsai et al.). هذه حالة لتعديل الهدف بواسطة الطفرة لاستعادة الفعالية الحفازة الأساسية بينما يقلل ربط الانجذاب للمثبط. وذلك يهدد الأسس الجزيئية لمقاومة المرض بواسطة طفرات GyrB بعد التعرض لمضادات كومارين الحيوية (ماكسويل 1997, Maxwell).

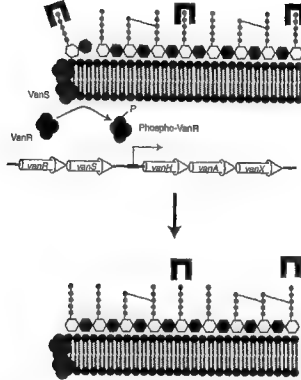
### الحماية أثناء إنتاج المضاد الحيوي في المنتجين من عائلة الفانكوميسين

تُصنع المضادات الحيوية من مجموعة الفانكوميسين بواسطة التسلسلات (streptomycetes) وأكتينوبلانان (actinoplanes). ومجموعات الجينات نظير الفانكوميسين، كلوروليروموميسين (choroeromomycin) (فان واجينينجين وآخرون 1998, van Wageningen et al.) (الشكل ٧.٨)، وليكل الببتيد السباعي (heptaepptide) البديل للتيكوبلانين (سوسيو وآخرون 2002, Sosio et al.) و A47934 (بوتولال وآخرون 2002, Pootoolal et al.)، ولقد تم تحديد تسلسل الجزء غير المرتبط بالغليكوسيل (nonglycosylated version) من التيكوبلانين من التسلسلة تويوكانسيس (*Streptomyces toyocensis*). وستتم تغطية منطق تفاصيل البناء الحيوي في الفصل الثالث عشر وآليات المقاومة المكتسبة في VRE في الفصل العاشر، حيث سنلاحظ أن أنماط VRE الظاهرة تنشأ من إعادة برمجة الإنزيمات التي تصنع المحطة النهائية D-Ala-D-Ala لطلبة البيتيدوغليكان خماسي الببتيد إلى المحطة النهائية D-Ala-D-lactate. وذلك سيقفل الانجذاب للفانكوميسين بنحو ١٠٠٠ طية (بوق وآخرون 1991, Bugg et al.) وينشئ المناعة الذاتية.

وهذا الانتقال من الببتيد الثنائي إلى ديسببتيد (dipeptide to deptsreptide) يجريه ثلاثة إنزيمات مشفرة بواسطة *vanH*, *vanA*, *vanX* (انظر والش وآخرون 1996 b, Walsh et al.). وتوجد مكافئات *vanH*, *vanA*, *vanX* في ترادف (tandem) كل من *S. toyocaensis* متتجي A47934 (مارشال وآخرون 1998, Marshall et al.) وفي متتجي التيكويلاين، بالقرب من مجموعة البناء الحيوي للتيكويلاين (سوسيو وآخرون 2000, Sosio et al.). كما تم فحص فسيولوجيا *S. toyocaensis*، والمزارع هي حساسة لـ A47934 أثناء النمو اللوغاريتمي (logarithmic growth) عندما لم يتم تصنيع المضاد الحيوي بعد. وعند تلك المرحلة من دورة الحياة، تنتج سلاسل الببتيدوغليكان D-Ala-D-Ala بواسطة D-Ala-D-Ala ليجاز (الإنزيم الرابط) *ligase* (ليغاز) الطبيعي. وعندما يدخل الكائن مرحلة الاستقرار (stationary phase) ويشغل الخيتات لإنتاج المضاد الحيوي فإنه كذلك يُشغّل *vanH*, *vanA*, *vanX* لصنع D-Ala-D-lactate، بواسطة بروتين A، المعروف بـ *ddlM* في هذا الكائن (مارشال وآخرون 1997, Marshall et al.)، ليعيد برمجة طبقة الببتيدوغليكان إلى عدم الحساسية للمضاد الحيوي الذي تم صنعه الآن (الشكل ٧، ٩). وهكذا فالتبديل يحدث بطريقة منسقة ومؤقتة.



الشكل (٧، ٩). مضادات الغليكوببتيد الحيوية.



الشكل (٧، ٩). تنظيم جينات *vanH*, *vanA*, *vanX* يساعد إعادة تركيب جدار الخلية إلى عدم الحساسية لمضادات الفليكوببتيد الحيوية عند البناء الحيوي للمعادن الحيوي.

#### إستراتيجية الحماية في منتجي ميتومييسين (mitomycin)

تنتج المتسلسلة لافينديولي (*Streptomyces lavendulae*) ميتومييسين المحتوي على كوينون سي (quinone C) والذي يعد مضاداً حيوياً مضاداً للأورام بخاصية الربط - عبر التساهمي - لـ دنا عند التسلسلات CpG (CpG sequences) في كلا خيطي دنا بعد الاختزال الحيوي (bioreduction) (الشكل ١٠، AV). الجزء بنزوكوينون (benzoquinone) للدواء بواسطة الإلكترونات ربما من السلسلة التنفسية للبكتيريا. تحتوي التسلسلات المنتجة على جين المقاومة *mcrA* الذي يرمز لفلافوبروتين (flavoprotein) مع العنصر المساعد فلافين أدنين دايبنوكليوتيد (flavin adenine dinucleotide cofactor) الذي يساهم في الحماية المتواسطة بالأكسدة (redox-mediated protection). والميتومييسين هو دواء موالى (prodrug) في شكله المؤكسد عند إكمال بنائه الحيوي. ويجب أن يخضع إلى اختزال (reduction) الإلكترونات ومن ثم يستطيع أن يعيد ترتيبه بواسطة فقد الميثانول كوينون ميثيد (quinone methide) والذي بإمكانه الاستيلاء على الـ دنا. ويقترح أن الإنزيم المساعد لفلافين أدنين دايبنوكليوتيد النشط - بأكسدة بروتين المناعة *McrA* يعيد أكسدة الشكل المختزل للميتومييسين في المنافسة مع، وبذلك يعرقل إعادة الترتيب ليكشف مجموعة دنا - الوظيفية النشطة (الشكل ١٠، BV).

الشكل (١٠، V). ميتوميسين: (A) الرابطة التبادلي لدنا بواسطة الإختزال الحيوي للمقلون (bireductive alkylation), (B) إعادة الألكمة (الانزيمية لميتوميسين الثنائي المائي (dihydro mitomycin) بواسطة Mera للحمض نووي - الملتصقة.

المقاومة الطبيعية والمكتسبة في البكتيريا المُفْرِضة

الأمثلة في الفصول الأربعة السابقة تجسد النواع لآليات المقاومة المكتسبة التي من المفترض أن تكون قد تراكمت، بعضها من المصدر لهذه الجينات في الكائنات المتتجة والأخرى تطوّرت من التعبير المحلي للإنزيمات إلى مواصفات جديدة، بواسطة بكتيريا التربة التي قد تطوّرت بالمشاركة مع جيرانها منتجي المضادات الحيوية في مئات الملايين من السنين. للمجينات (genomes) الكاملة لمُرضتين من المُمرضات البكتيرية الهامة للإنسان، الزائفة الزنجارية والمكورة العنقودية الذهبية المقاومة للمثسلين (MRSA) كُشف عن وجود إستراتيجيات مختلفة (كرودا وآخرون Kuroda *et al.*, 2001، ستوف وآخرون Stover *et al.*, 2000) للحماية - الناتجة.

إن سلالات الزائفة الزنجارية يمكن أن تكون التهمة الأساسية في تجرثمات الدم المهددة - للحياة في مرضى الحروق، والعوامل المسببة لعداوى الجهاز البولي في المرضى بالقسطار البولية، والعوامل المسببة للالتهابات الرئوية في المرضى على التنفست وعداوى الرئة المزمنة في المرضى المصابين بالتليف الكيسي (cystic fibrosis). ولكن هذه الزائفات (pseudomonads) عموماً أقل فوعة (ضراوة virulent) بكثير من المكورة العنقودية الذهبية وعادة ما تسمى مُمرضات إنتهازية (opportunistic pathogens)؛ بسبب أنها تنشئ العداوى الخطيرة بشكل كبير في المضيفين منقوصي المناعة. توجد سميتان في التحليل الأول للملاحظة مسبب إطار القراءة المفتوحة للزائفة الزنجارية PA015,570 (ستوفر وآخرون 2000, Stover *et al.*). الأولى كانت في عدد أكبر من اثنين - من مكونات الجهاز التنظيمي - 55 استشعار كينيز - 55 (sensor kinases)، 89 الاستجابة المنظمة لعوامل الانتساخ (response regulator transcription factors)، و 14 استشعار/استجابة منظم البروتينات المندجة (14 sensor/response regulator fusion proteins) يسمح بالمرونة في الاستجابة للمدخلات البيئية والتكامل فيما بين عديد من المدخلات خارج الخلية التي قد تجعل الزائفة الزنجارية مُمرض ناجح (رودريجو وآخرون 2000, Rodrigue *et al.*). الثانية كانت العدد الكبير من مسامات الغشاء الخارجي: 19 أعضاء من عائلة OprD، 34 جين من عائلة TonB، و 18 في عائلة جين OprM. تعد الزائفات مقاومة داخلياً للعديد أو معظم المضادات الحيوية؛ بسبب أنها تحتفظ بتركيز منخفض صافي داخل الخلية. وسعة المسام هي مؤشر واحد، والمرتبطة منها هي مضخات التدفق (تم شرحها بالتفصيل في الفصل التاسع)، مع 10 من العائلة الفرعية Mex و 20 من العائلة الفرعية Bmr. وهذه المضخات تستطيع أن توفر الحماية ضد المركبات الغريبة، ولتضمن بأن معدل النفاذ / التدفق (efflux / influx ratio) هي الآن على جانب النفاذ (التدفق للخارج).

تعد السلالات العالية الفوعة من المكورة العنقودية الذهبية MRSA و VRSA (المكورة العنقودية الذهبية المقاومة للفانكوسيسين) مُمرضات أكثر فوعة للإنسان في المرض وقد سُميت مُمرضات محترقة بعكس الانتهازية التي نوه عنها في الفقرة السابقة. وكشفت المجينات لسلالة N315 MRSA وسلالة Mu50 VRSA (كورودا وآخرون Kuroda *et al.*, 2001) 3 أو 4 مجموعة جينات في جزر الأمراض (pathogenicity islands) و 26 إلى 28 مجموعة جينات على العناصر الجينية المتحركة. وكلا النوعين من المجموعات يعكس الآليات حول كيف تلتقط المكورة العنقودية الذهبية الجينات من مكان آخر وتقدمها لتوظف على الفوعة والأمراضية. جميع البقوليات (الترنسبوزونات) وتسلسلات الغرس المصرح بها تصنع إلى نحو 70٪ من مجينات المكورة العنقودية الذهبية هذه، في أنها تكاد تكون غير موجودة من بكتيريا أخرى موجبة - لغرام، العصية الرقيقة (*Bacillus subtilis*). وهناك ما يقرب من 70 إطار قراءة جديد مفتوح متورط في الفوعة تم العثور عليه بواسطة كورودا وآخرون (Kuroda *et al.*, 2001). ومن حيث التقاط الجين المحدد الذي يؤدي إلى مقاومة المضاد الحيوي، الجدول (٧.٢) (استناداً إلى بيانات كورودا وآخرون 2001, Kuroda *et al.*)، لوحظ 9 جينات التي تمنح المقاومة للمضاد الحيوي في سلالات MRSA و VRSA، وتشمل كل من *blaZ* و *mecA*

لمقاومة البيتا - لكتام (الفصلان الثامن والعاشر)، *ermA* لمقاومة الإريثروميسين (الفصل العاشر)، *ant4'*، *ant9'*، و *aca-aphD* لتعديل الامينو غليكوسيد (الفصل الثامن)، و *tetM* و *gacA* لمضخات تدفق الدواء (الفصل التاسع). تحتوي الجزيرة الإمراضية التي تسمى *SSC<sub>mec</sub>* على الجينات *ermA*، *mecA*، *blaZ*، *bleO* و *ant4'* ومن الواضح أنها المحددات الجينية التي تساهم في براعة سلالات MRSA كمُمرضات محترقة (هيرماتسو وآخرون 2001، Hiramatsu *et al.*).

الجدول (٢، ٧). جينات المقاومة للمضاد الحيوي الموجودة في MRSA.



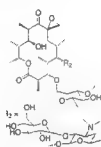
البروتين	الجين	مقاومة المضاد الحيوي
البروتين المقاوم لليلوميسين	<i>bleO</i>	يلوميسين
PBP2'	<i>mecA</i>	بيتا-لكتاميز
بيتا - لكتاماز	<i>blaZ</i>	بيتا-لكتامز
rRNA مثيلاز	<i>ermA</i>	إريثروميسين، بريسيتاميسينات
أو- نيوكليوتيديل ترانسفيراز	<i>ant 4'</i> ، <i>ant 9'</i>	أمينوغليكوسيدات
أستيتيليز - فوسفوترانسفيراز	<i>AcaA-aphD</i>	أمينوغليكوسيدات
TetM بروتين التدفق	<i>tetM</i>	تتراسيكلينات
QecA	<i>gacA</i>	المطهرات

ولقد تم اختبار حساسية البكتيريا للأدوية المضادة البكتيرية كلاسيكياً بواسطة المقاييس الظاهرية التي تقيم قابلية المضاد الحيوي لتثبيط نمو البكتيريا تحت ظروف نمو معينة. وبالإمكان استخدام صيغ مختلفة، تشمل مقاييس انتشار القرص (disk diffusion)، وتخفيف الإيفار (agar dilution)، وتخفيف المرق (broth dilution).

وعلى سبيل المثال، فالأقراص المشبعة بمادة الكيفالوسبورين غير الملونة، نيتروسيغيم (nitrocefem) يمكن استخدامها لاختبار البكتيريا التي تنتج بيتا - لكتاميز. ويؤدي فتح الحلقة في حلقة لكتام للنيتروسيغيم إلى التخلص من مادة نيترو العطرية (nitroaromatic) الغنية بالإلكترونات المستبدلة الصفراء، وهكذا ينتج عن الاختبار تطور اللون. وفي الآونة الأخيرة، أصبحت الطرق التي تقيم النمط الجيني للمقاومة للمضاد الحيوي مباشرة بدلاً من النمط الظاهري للحساسية أكثر استعمالاً (تمت المراجعة بواسطة كوكوريل 1999، Cockerill). وبالأخص عندما تكون الطفرات السائدة المسببة للمقاومة معروفة وبالإمكان بسهولة فحصها وراثياً. وعلى سبيل المثال، بالإمكان الكشف بسهولة عن وجود جين *mecA* في العزل الميكروبي العنقودي السريري بواسطة PCR (تفاعل ساسلة حافز البلمرة) لمنطقة من *mecA*، يتبعها تحليل الرحلان الكهربائي للهلام (gel electrophoresis). كما أنه بالإمكان الكشف بسهولة عن وجود جين *mecA* على الهلام المصبوغ بواسطة بروميد الإيثيديم (ethidium bromide) (كوكوريل 1999، Cockerill). وبشكل منظر، فإن

اكتساب الجينات من عائلة TEM- بيتا لكتاماز (TEM  $\beta$ -lactamase family) الذي يحدث مقاومة سريرية للسيفتازديم، سيفوتاكسيم وأزيترونام (انظر الفصلان الثالث والثامن) في عزل الكلبسيلا الرئوية (*Klebsiella pneumoniae*) والإشريكية القولونية، يمكن بسهولة الكشف عنه بواسطة تحليل PCR وتقييد جزء من طول متعدد الأشكال (restriction fragment length polymorphism) (كوكريل 1999, Cockerill). ولقد تم الكشف عن مقاومة الريفامبين في المتطفرة السلية بواسطة تحليل PCR للطفرات في جين *rpoB* الذي يرمز للوحدة الفرعية بيتا لحافز بلعرة رنا بينما مقاومة الكوينولون يتم الكشف عنها بواسطة تحليل PCR وتعاقب تسلسل دنا لأجزاء من جين *gyrA* الذي يرمز للوحدة الفرعية *GyrA* لإنزيم دنا غايراز، والمستول بفعالية عن جميع المقاومة السريرية للكوينولون (كوكريل 1999, Cockerill).

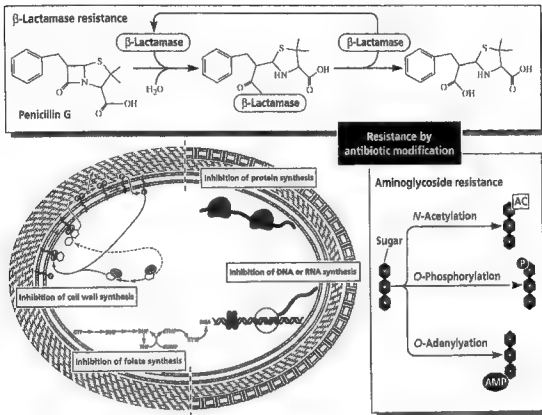
والخلاصة، أن الطرق الثلاثة للحماية الذاتية في منتجي مضادات الميكروبيد الحيوية التي لوحظت في الشكل (٧،١١)، مهدت لمرحلة لفهم الإستراتيجيات الثلاث الرئيسة لمقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية التي سوف نكشف عنها في الفصلان الثامن والعاشر. الأولى مثلة بالتعطيل المؤقت للشكل داخل الخلية للمضاد الحيوي في منتجي أولياندوميسين. والمثابة في الممرضات المقاومة بالإمكان وصفها بالتلمير الإنزيمي للمضاد الحيوي، كما هو الحال في الإغخال المائي للبيتا لكتام، تحوير (تبديل) الامينوغلوكوسيد، وأسر الفوسفوميسين (fosfomycin capture) بواسطة جلوتاثيون (glutathione) (الفصل الثامن). إن تدفق المضادات الحيوية الداخل الخلية الممارسة بواسطة المنتجين، والموضحة بفعل مضخة OleB هو نادر لإستراتيجية عامة لتخفيض التركيز المحيط للمضادات الحيوية داخل خلايا الممرضات.

طريقة الحماية - الذاتية للمنتج	تعطيل النشاط المؤقت للمضاد الحيوي داخل الخلية	تدفق المضاد الحيوي المنتج	تعديل الهدف في المنتج
مثال على الحماية - الذاتية لمنتج الميكروبيد	تسكير الأولياندوميسين	تصدير الأولياندوميسين بواسطة OleB	نزع الميثيل من الإدينين في 23S rRNA
			23S rRNA:m9A2085
الطريق المثابة للمقاومة البكتيرية السريرية الملاحظة	تعطيل نشاط المضاد الحيوي	تدفق المضاد الحيوي	تعديل الهدف

الشكل (٧،١١). المثابة بين الحماية - الذاتية للمنتجين والمقاومة البكتيرية.



وهذا يمكن أن يكون مزيج من معدلات تدفق منخفضة تعمل غالباً في البكتيريا السالبة - لغرام من خلال نفوذية حاجز الغشاء الخارجي، بالإضافة إلى معدلات التدفق المتسارعة. وبإمكان بروتينات مضخة التدفق أن يكون لها ألفة (نوعية) ضيقة (narrow specificity)، مثال، بروتين TetB للتراسيكلين، أو أن يكون لها انتقائية واسعة، كما هو الحال مع بروتينات مضخة التدفق متعددة الدواء (الفصل التاسع). والآلية الثالثة هي أن الممرض يغير البروتين الهدف بحيث أنه يظل يحتفظ بوظيفته الفسيولوجية ولكن الآن له انجذاب أقل للربط مع المضاد الحيوي (الفصل العاشر). وفي بعض منتجي الإريثروميسين، ما تزال هذه الإستراتيجية معمول بها بواسطة المثيلة الثنائية  $A_{2058}$  *N,N*-dimethylation في 23rRNA لتصنع وحدة 50S الفرعية المقاومة. وتخوير (تبديل) الهدف في الممرضين يمكن أن يكون طفرات في أو استبدال البروتين - البري (wild-type protein)، كما هو الحال في البروتينات المرتبطة - بالنيسلين، أو تبديل في الركيزة (المادة) للإنزيم الرئيسي، كما في إعادة برمجة D-Ala-D-Ala-D-lactate.



تعديل المضادات الحيوية بواسطة البكتيريا المقاومة

## التدمير الإنزيمي أو تعديل المضاد الحيوي بواسطة البكتيريا المقاومة ENZYMATIC DESTRUCTION OR MODIFICATION OF THE ANTIBIOTIC BY RESISTANT BACTERIA

هذا الفصل هو الأول من ثلاثة (الفصلان الثامن والعاشر) التي تتعامل مع الآليات الثلاثة الرئيسة لمقاومة المضادات الحيوية. الشكل في افتتاح الفصل يبرز قسم من الشكل (٢.٢) الذي يلخص المقاومة بواسطة تعديل (تغيير) المضادات الحيوية. يحدث تعطيل النشاط الإنزيمي للمضادات الحيوية مع العديد من المنتجات الطبيعية من أصناف المضادات الحيوية ولكن لم يلاحظ بعد كطريقة لتطور المقاومة لأصناف المضادات البكتيرية الاصطناعية: كتوليفة سلفاميثوكسازول، الفلوروكوينولونات، أو أوكسازولينونينات. وهذا قد يعكس زمن تعرض البكتيريا للمنتجات الطبيعية، افتراضاً مئات الملايين من السنين، مقابل ٧٠ عاماً أو أقل لصنع الإنسان المضادات الحيوية. وهذا المعيار قد يوحي أن المضادات الحيوية الجديدة المصنوعة من مكثبات الكيمياء الاصطناعية التي لا توجد في الطبيعة يمكن أيضاً أن يعطل نشاطها ببطء بواسطة هذه الآلية. وبالطبع، فطرق تعطيل النشاط الآخرين، التي تم شرحها في الفصلان التاسع والعاشر، يمكن أن تكون فعالة.

الطريقة الأكثر انتشاراً لتطور المقاومة السريعة لمضادات بيتا-لكتام الحيوية هي استخراج إنزيمات البيتا-لاكتاماز ( $\beta$ -lactamases) التي تحلل (تذوب) المضاد الحيوي (بوش ومباشري 1998 Bush and Mubashery). وقد اقترح أن الخسائر الاقتصادية السنوية تقدر بحوالي ٣٠ بليون دولار في سكان الولايات المتحدة من الأمراض التي تسببها البكتيريا المقاومة المنتجة للكتاميز (بالومبي 2001 Palumbi).

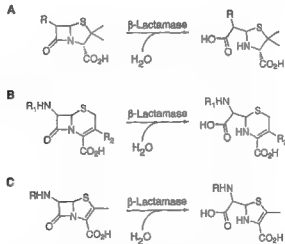
### تدمير مضادات بيتا- لكتام الحيوية بواسطة بيتا- لكتامازات

العائلات الفرعية من البيتا لكتامازات: الإنزيمات المألوفة للموقع -النشط سيرين  
(Subfamilies of  $\beta$ -lactamases: active-site serine hydrolases)

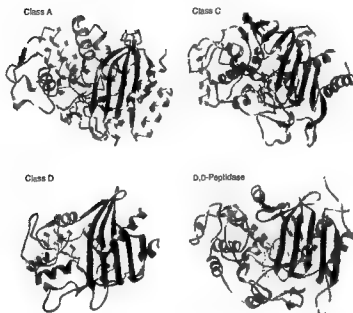
تحلل إنزيمات البيتا-لاكتاماز حلقة البيتا-لاكتام ذات الأربعة - أطراف في كل من أصناف مضادات البنسيلين والكيفالوسبورين الحيوية فضلاً عن مجموعة الكاربامينيم (الشكل ٨.١). وهم بذلك يدمرون النشاط المضاد للبكتيريا

بواسطة تعطيل نشاط الرؤوس الحرة الكيميائية في الجزئ، البيتاكتامز المتوتر الذي يعدُّ المجموعة الكيميائية المؤسلة (acylating group) النشطة لتعديل موقع سيرين - النشط من السلاسل الجانبية في البروتينات المرتبطة بالبنسيلين (PBPs) (ترانسبيتيدازات وكربوكسيبيتيدازات (transpeptidases and carboxypeptidases) في الربط التبادلي للبيتيدوغليكانات، انظر الفصل الثالث). ولقد اكتشف نشاط البيتاكتاماز قبل سنوات قليلة من الاستعمال السريري للبنسلين في الإنسان، مما يدل على وجود البكتيريا في التربة التي تكافح البنسيلين المنتج الطبيعي والأن أكثر من ١٩٠ بيتاكتاماز تم وصفها (بوش وموياشري ١٩٩٨، ثومسون ومولاند 2000 Thomson and Moland) وتصنفها إلى الصنف A,B,C,D بيتاكتامازات (بوش وموياشري 1998 Bush and Mobashery). والأصناف A,C,D هي إنزيمات ذات الموقع - النشط سيرين، مع التشابه المعماري والآلي للبروتينات المرتبطة بالبنسيلين (PBPs) (نوكس 1995 Knox، نوكس وآخرون 1996 Knox *et al.*)، (الشكل ٨.٢) مما يوحي على التطور من البروتينات المرتبطة بالبنسيلين.

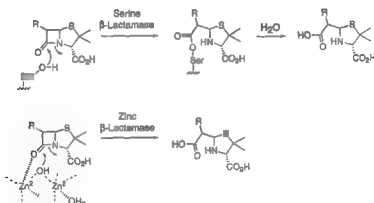
يتكون في أصناف A,C,D من البيتاكتاماز نفس نوع إنزيم بنسيلويل - أو سير (pencilloyl-O-Ser) المتواسط التساهمي كما هو الحال في الدورة المحفزة للبروتينات المرتبطة بالبنسيلين التي تهاجم وتفتح حلقة البيتاكتامز وتصبح مؤسلة - ذاتياً (الفصل الثالث). ولا يوجد إنزيم بنسيلويل متواسط تساهمي في الدورة المحفزة لصنف B بيتاكتامازات (الشكل ٨.٣) المعتمد على الزنك، والذي له عواقب لفشل صنف B بيتاكتامازات من أن تثبط بواسطة الأدوية المعينة، كما تم شرحه لاحقاً.



الشكل (٨.١). فتح الحلقة للأدوية وتعطيل نشاط (A) البنسيلينات، (B) الكيفالوسبورينات، و (C) الكارباميمات بواسطة بيتاكتامازات.



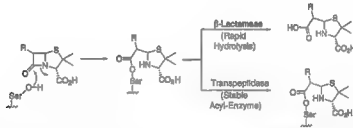
الشكل (٨، ٢). تركيب الأصناف A, B, C, D من البيتالاكتاماز والتناظر إلى طية D-D-peptidases (PBP). (الشكل المقدم بالإذن من جي. نو كس J.Knox).



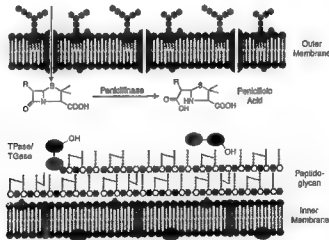
الشكل (٨، ٣). تحليل حلقة البيتالاكتام للبتيسيلين بواسطة أصناف A, C, D بيتاكنايز التي تشمل إنزيمات بتسيلويل التساهمية المتوسطة، بينما أصناف بيتالاكتاماز B المعتمدة على الزنك تفقد عملية الهجوم بواسطة الماء.

وقد كان هناك جدل على أن البروتينات المرتبطة بالبتيسيلين قد تكون نشأت إلى بيتالاكتامازات عدة مرات وبشكل مستقل، من أجل توليد مختلف الاتجاهات لرواسب الموقع - النشط في الصف A, C, D من البيتالاكتامازات (انظر ماسوفا وموباشري 1998، Massova and Mobashery، والمراجع الواردة فيه). والفارق في النتيجة وانقلاب البيتالاكتامازات والانتحار من أجل ترانسبيتيدازات للبروتين المرتبط بالبتيسيلين (PBP transpeptidases)، ينشأ من الأعمار المختلفة لإنزيمات أسيل - أو سير (acyl-O-Ser). وفي إنزيم بتسيلويل PBP- أسيل من الترانسبيتيدازات،

يستبعد الماء من الموقع النشط ويكون التحلل بطيء للغاية (يبلغ زمن - النصف لنزع الأسيل حوالي ٩٠ دقيقة، مقارنة بأربع دقائق للإنزيم N-acyl-D-Ala-D-Ala acylase من المادة الطبيعية) (فيشر وآخرون 1980, Fisher *et al.*)، وتشكل مماثل فالعمر الزمني للإنزيم بنسليويل يكون طويلاً، ويعطل نشاط الترانسبيتيداز، ويتوقف الربط التبادلي للبيتيدوغليكان (للمراجعة، انظر نوكس وآخرون 1996, Knox *et al.*). وعلى التقيض، يشمل نشاط اللاكتاميز التحلل المائي، وليس أسر إنزيم أسيل - أو - سير بواسطة الأمين (amine)، وللماء حرية الوصول للموقع -النشط لإنزيم بنسليويل - أو - سير، ومعدل نزع الأسيل يكون سريعاً (الشكل ٨، ٤)،  $2.600 \text{ s}^{-1}$  للبيتالاکتاماز TEM-1. ويبلغ صافي الفرق في معدل نزع الأسيل لنفس الإنزيم المتواسط بنسليويل - أو - سير في اللاكتاميز مقابل  $2.7 \times 10^7$  PBP. تفرز البكتيريا السالبة - لغرام المنتجة للبيتالاکتاميز هذا الإنزيم المشرف إلى داخل فضاء الجنبلة (periplasmic space) بحيث أن مضادات البيتالاکتام الحيوية تتحدى هذه الإنزيمات المحللة لتصل إلى أهدافها عند سطح الغشاء السيتوبلازمي (الشكل ٨، ٥)، مما يجعل من الصعب على أي بيتالاکتام سليم الوصول إلى هدفه PBP.



الشكل (٨، ٤). نصف - الأعمار المختلفة لأنزيم أسيل - أو - سير المتواسط التي تتحكم بالتأثير بواسطة بنسليويل-PBP مقابل بنسليويل-بيتالاکتامازات.



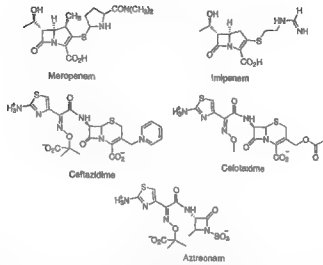
الشكل (٨، ٥). بيتالاکتامازات في جبلة الخلية البكتيري تحلل الببتيدات والكيلالوسبورينات قبل أن يصل هدفه PBP عند الوجه الخارجي للغشاء السيتوبلازمي. TPase/ TGase، ترانسبيتيداز/ ترانسغلوكوزيلاز ثنائي الوظيفة.

يُرمز TEM-1 (داتا وكونتوميكالو 1965، Datta and Kontomichalou) و TEM-2 لكتامازات ذوي العلاقة المنتشرين في البكتيريا - السالبة - لغرام مثل الإشريكية القولونية والكلبسيلا الرئوية، على عناصر نقل وتتحرك بسرعة خلال جبهة البكتيريا (أميز 2001، Amyes، ويديمان وآخرون 1989، Wiedemann *et al.*). وكان الكيفالوسبورينات - ممتد - المدى مثل سيفتازيديم وسيفوتاكسيم (التركياب في الشكل ٨،٦)، انظر كذلك الفصل الثالث) قد طُوِّر للتغلب على المقاومة المقدمة بواسطة TEM-1 والبتاكتامازات ذات العلاقة. وفي المقابل، فإن ما لحق من الاستخدام الواسع الانتشار للكيفالوسبورين، يعتقد أنه قد انتقي للطفرات المتعاقبة في TEM بيتالاكتامازات، منتجاً إنزيمات حالة والتي حسنت الانجذاب لأطر اللاكتام هذه وما يعقب ذلك من المقاومة الممتدة - للبيتاكتام (انظر الفصل السابع عشر). والعديد من TEM لكتامازات المتغيرة قد تم عزلها وتسلسلها (مثال، جوسارد وكورفالين 1999، Goussard and Courvalin). وبخصوص التقدم الذي أحرز من تحديد تركيب أشعة - (كس للكتامات ووسائل إنزيم أسيل المشتق من اللاكتام في الموقع النشط للكتامازات، انظر بيدل وآخرون 2002، Beadle *et al.*).

بيتالاكتاماز- المعدن (المفلز): الإنزيم الحال- للزك

(Metallo- $\beta$ -lactamases: zinc hydrolases)

صنف B بيتالاكتاماز هي إنزيمات الزنك، وتحتوي على مجموعة زنك ثنائية النواة في الموقع النشط (توني وآخرون 1998، Toney *et al.*، وانج وآخرون 1999، Wang *et al.*). وعلى عكس الأصناف A<sub>1</sub>C<sub>1</sub>D بيتالاكتاماز، التي تفتح حلقة اللاكتام عن طريق وسائط إنزيم أسيل التساهمي، التي نوه عنها أعلاه، يستعمل صنف B بيتالاكتاماز الزنك لتنشيط جزيء الماء ويحفز إضافته المباشرة إلى حلقة البيتاكتام (الشكل ٨،٣). ويعتقد أن النوع B من البيتاكتاماز - المعدن هو الصنف الفرعي الرئيس للإنزيمات الحالة (hydrolases) التي تدمر مضادات كارباميد الحيوية مثل إيميبينيم (ثيناميسين thienamycin) وميروينيم (الشكل ٨،٦). والاستعمال الواسع للكارباميد في اليابان (كروكاوا وآخرون 1999، Kurokawa *et al.*) ربما كان مساعداً في انتقاء نسخة IMP-1 من بيتالاكتاماز - الزنك التي شوهدت للمرة الأولى في سيريشيا (المنشأة) مارسيسنز (*Serratia marcescens*) والزائفة النرجارية. ولقد تم وصف إنزيمات الكارباميدازات (carbapenemases) كمسكلة سريرية في الانتظار لعداوى الزئفة (ليفمور وودفورد 2000، Livermore and Woodford) ولكن كانت مشكلات مقاومة الكارباميد الأكثر حدة في الزائفة النرجارية هي في آليات التدفق، كما لوحظ في الفصل التاسع. والعديد من البكتيريا التي تنتج النوع D من الإنزيم الحال المفلز (type D metallohydrolases) تنتج كذلك الأنواع A<sub>1</sub>C أو D لكتاميز (راسموسين وبوش 1997، Rasmussen and Bush)، وعلى سبيل المثال يحمل العزل السريري من *S. marcescens* النوع A وانوع B من الجين *bla* على البلازميد (يانو وآخرون 1999، Yano *et al.*).



(الشكل ٦، ٨). التعديلات التركيبية في سلاسل أسيل الجانوية لمضادات بيتالكتام الحيوية من أجل البناء في المعالجة البطينية بواسطة بيتالكتاماز. يظهر تحليل أشعة - (كس لمضادات بيتالكتام الحيوية الممتدة المدى بواسطة بولورات بيتاكتاميز المشتركة أن السلسلة الجانوية الضخمة توفر عرقلة شديدة الفراغية لتحديد المواقع المناسب للماء في خطوة نزع الأسيل ومستولة عن  $R_{\text{cat}}$  التحلل الإنزيمي العالي.

### الإستراتيجيات لمعادلة بيتالكتاماز

هناك طريقتان قد تم الأخذ بهما في العقود منذ بدأ العزل السريري المقاوم - للكتام ينقص فعالية البنسيلينات والكينالوسبورينات كمضادات حيوية. الأولى كانت لتطوير بيتالكتاماز شبه اصطناعي والتي كانت مواد أبطأ للهجوم بواسطة اللاكتامازات الحائلة بالماء (hydrolytic lactamases). والطريقة الثانية كانت للكشف عن مبيطات ومعطلات نشاط لفعالية اللاكتاماز ومن ثم تجمع هذه الجزئيات مع البيتالكتام. وكل من الطريقتين لها نجاحاتها (نوليس 1985, Knowles).

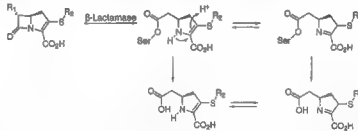
#### المواد (الركائز) البطينية للبيتالكتامازات

البحث عن لاكتامز شبه اصطناعي الذي يحفظ بقوة المضاد الحيوي ولكن له فعالية متزايدة ضد منتجي الاكتاميز أبرز عديداً من الجزئيات التي أدخلته في المعالجات السريرية. وأساساً هذه إستراتيجية لإيجاد بدائل على رؤوس حرب بيتاكتام الكيميائية التي تعرقل ربط بيتالكتاماز و/ أو التحفيز ولكن لا تتدخل مع ربط PBP وعملية الأسلة (acylation). وتقع المونوبكتامات وحيدة الحلقة (monocyclic monobactams) ضمن هذه الفئة، وأزترينوم (aztreonam) هو أحد الأمثلة (الشكل ٦، ٨). وكذلك في هذه الفئة الكاربابينيمات، ويستبدل الكبريت (sulfur) في الخمس حلقات بالكربون (الشكل ٦، ٨)، وهذه هي الإستراتيجية في المروينيم (meropenem) والثيناميسين مركب الإيميسين. بذل الكثير من الجهد لإيجاد الاكتامات التي لا تكون مواد للاختلال بواسطة الاكتامازات وركز هذا الجهد على كيفالوسبورين ٦/٤ ثنائي حلقة الإطار مع تغيير سلسلة أسيل الجانوية، منتجاً الأدوية مثل سيفتازيديم وسيفوتاكسيم



(الشكل ٨.٦) والتي تطيل مدى فعالية المضاد الحيوي لعلاج عديداً من الممرضات المنتجة - للبيتا لكتامازات (انظر كذلك الفصل الثالث). والمتفق كان أن سلاسل أسيل الجانية الضخمة على مجموعة ٧-أمينو لإطار اللكتام تسمح بتكوين وسائط أسيل-PBP (acyl-PBP intermediates) ولكنها تعرقل المعالجة بواسطة اللكتامازات.

يعد الكاربابينيم ثيناميسين مادة بطيئة لتحلل البيتالكتامازات لأسباب مختلفة. يستطيع إنزيم الأسيل الوسيط (الشكل ٨.٧) أن يخضع لعملية تزامرية تشابكية مزدوجة - الربط (double-bond isomerization) في الحلقة ذات الخمس - أعضاء من  $\Delta^2$  إلى  $\Delta^1$  أوليفين (olefin)، إنيامين إلى إمين (an enamine to an imine)، والشكل الأخير من إنزيم أسيل خو الأبطأ ليتحلل بموالي ٥٠٠٠٠ طية (انظر ماسوفا ومباشري 1998، Massova and Mobashery). وتعد الكيمياء الفراغية (stereochemistry) لسلسلة هيدروكسي إيثيل (hydroxyethyl) الجانية، 1R بدلاً من 1S في البنسيلينات محدد مهم كذلك لعرقلة هجوم الماء في عملية نزع الأسيل (deacylation) من إنزيم الأسيل. وتحلل البطيء يعني العمر الطويل لإنزيم الأسيل، وبهذا فالقوة المحفزة المدمرة للبيتالكتاماز بضمخامة الأوامر في حين أنها وضعت في هذا التقريب التساهمي. وبدل - الثيناميسين، ميريونيم (انظر ميتشر وآخرون 1999، Mitscher *et al.*) (الشكل ٨.٦) له ميثيل مستبدل على الحلقة الخامسة لإتاحة الإعاقة الفراغية للربط إلى البيتالكتامازات.



الشكل (٨.٧). التزامرية التشابكية في شكل إنزيم أسيل مفتوح - الحلقة من كاربابينيم ثيناميسين أثناء التدمير بواسطة بيتالكتاماز يعطي صافي التحلل للماء.

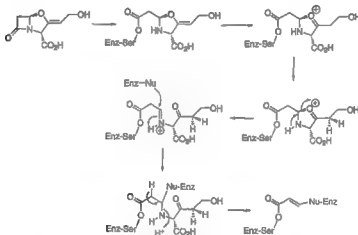
### الآلية - المستندة على مثبطات الفعالية للبيتالكتاماز

الطريقة الثانية، المسح للآلية - المستندة على مثبطات الفعالية للبيتالكتامازات لتبني فلسفياً على النمط المشاهد مع الكاربابينيم - المشتق من إنزيم الأسيل، وهو يعتمد على إعادة ترتيب إنزيم أسيل *O*-لكتاميز التساهمي (acyl-*O*-lactamase) الأولي إلى شكل الإنزيم التساهمي البديل الذي يعتبر أبطأ بكثير ليتحلل. ويوجد نوعان من الآلية المستندة على مثبطات الفعالية، أو مواد التحارية، للبيتالكتامازات لتصبح ناجحة سريعاً (ميتي وآخرون 1998، Maiti *et al.*). الأول هو المنتج كلافولينيت (clavulanate) الطبيعي، وهو بيتالكتام إنول إثير ( $\beta$ -enol ether) (lactam) من المتسلسلة كلافوليجريس (*Streptomyces clavuligerus*)، والصف الثاني يمثل بواسطة سلفون البنسيلين

(penicillin sulfone) والبديل تازوبكتام (tazobactam) المتجانس (الشكل ٨.٨). وفي كل من الكلافولينيـت وسلفون البنسيلين، التعديلات التركيبية تضعف رابطة C-O أو رابطة C-S. بالترتيب، بحيث أن الهجوم بواسطة اللاكتاميز الموقع - النشط - سيرين OH- (serine-OH) lactamase active-site على كربونيل البيتالاكتام يؤدي أيضاً إلى تجزئة ٥/٤ وصلة الحلقة، كما هو مبين في الشكل (٨.٩). والترتيبات اللاحقة تتبع ذلك، مع المزيد من التجزئة وتراكم إنزيم أسيل المعاد ترتيبه (ماسوفا ومباشري (Massova and Mobashery, 1998). والتأثير الصافي للمعالجة بواسطة الصنف A للبيتالاكتاماز هو إنزيم أسيل مقترن ومهاجم أقل - بكثير بواسطة الماء لنزع الأسيل والتعطيل المقارن لإنزيم أسيل مفتوح - الحلقة اللاحق والمشتق من سلفونات البنسيلين. وأشكال إنزيم أسيل من البيتالاكتاماز الأكثر ثباتاً تعني أن هذا المضاد الحيوي - محفز التدمير قد وُظف في عقد طالما استمر بقاء إنزيم أسيل. ولا يعتبر الكلافونيت ولا حتى السلفونات أقوياء بما يكفي كمضادات بيتالاكتام حيوية لتستعمل بمفردها ولذلك فهي تستعمل في تجميعات (تواليف) (الشكل ٨.٨). وعلى سبيل المثال، فتوليفة الأموكسيسيلين والكلافولينيـت، المعروفة بالأجمنتين (Augmentin)، لزيادة القوى التي يضيفها الكلافولينيـت إلى الأموكسيسيلين، كانت من أوسع أشكال البنسيلين استعمالاً في السنوات الأخيرة. وفي مخطط الشكل (٨.٥)، يعطل الكلافولينيـت نشاط ما يكفي من جزيئات البنسيليناز (penicillinase) (بيتالاكتاماز) ليمسح للأموكسيسيلين بالبقاء في جلة خلية متتجي البيتالاكتاماز ليبر ذلك الفراغ سليماً. وهكذا بإمكان الأموكسيسيلين التحدي وبلوغ أهدافه PBP في الغشاء السيترولازمي (مثال، مجال الترانسببتيداز (TPase) لـ Tpsase الثنائي الوظيفي / PBP ترانسغلوكوسيلاز ذا الوزن الجزيئي - العالي). تعرف التوليفة المماثلة للسلبكتام (sulbactam) والأميسيلين يوناسن (Unasyn)، وبياع تازوبكتام وبيراسيلين كزوسن (Zosyn) (الشكل ٨.٨). بينما من الواضح أن هذه الآلية - المستندة على المثبطات سوف تستهدف فقط البيتالاكتاماز - المستند على السيرين وليس الصنف D للكتامازات المعدنة (الشكل ٨.٣)، كما يلاحظ أن السلبكتامات والكلافولينيـت هما الأكثر فعالية ضد الصنف A بيتالاكتاماز ونقص الفعالية المفيدة ضد الصنف C بيتالاكتاماز (برونسون وباريت 2001a، Bronson and Barrett)، وهكذا فهناك مجال للمزيد من تطوير الآلية - المستندة على مثبطات الكتاميز. لقد تم عزل البروتين المثبط للبيتالاكتاماز بيتالاكتاماز بيتالاكتاماز (BLIP) ( $\beta$ -lactamase inhibitory protein) من المتسلسلة كلافوليجرس، التي تنتج الكلافولينيـت، حيث من الممكن أن تكون بمثابة بروتين مناعة لحماية الكائنات المنتجة - للمضادات الحيوية. BLIP له قيم  $K_i$  تبلغ مليون من مليون جزيء غرامي إلى جزء من ألف مليون جزيء غرامي ليرتبط مع العديد من بيتالاكتاماز (مثال، 0.1 to 0.6nM لـ TEM-1) (رودجرس وآخرون 2001، Rudgers et al.)، ولقد تم حل تركيب أشعة - إكس للمعقد BLIP و-TEM بيتالاكتاماز، المؤدي إلى نظرات ثابتة إلى المثبطات - المستندة على البروتين ويفترح أن تحويل الببتيدات المشابهة إلى بيتا ( $\beta$ -turn peptidomimetics) سيجعلها مثبطات مفيدة (رودجرس وآخرون 2001، Rudgers et al.). والبروتين الثاني، BLIP-II، من المتسلسلة إكسوفوليتس (*Streptomyces*)

Chemical structures of Clavulanic acid, Sulbactam, and Tazobactam are shown. Clavulanic acid is a beta-lactam with a hydroxymethyl group and a carboxylic acid group. Sulbactam is a beta-lactam with a sulfamoyl group and a carboxylic acid group. Tazobactam is a beta-lactam with a sulfamoyl group, a methyl group, and a 1,2,4-triazol-5-ylmethyl group.

الشكل (٨، ٨). الكلافونيت، سلهكلام وتازوبكام: الآلية - المستدة على مبطات الفعالية للبيتاكتامازات.



الشكل (٨، ٩). تحويل مسار وسيط إنزيم أسيل بواسطة الكلافولانيت وسلفون الهيملين لتحييط لفعالية الببتاكتاماز.

مبشرات بیتالا کتاماز المعدن

أصبح استعمال الكاربينيمات في معالجة كل من العدوى السالبة - لغرام والموجبة - لغرام ضعيفاً بواسطة التحلل المائي الإنزيمي وتعطيل الفعالية. بينما الكاربينيمات وكما ذكر أعلاه مقاومة إلى حد كبير لصف A بيتا لاكتاماز المستندة - على سيرين الكروموسومي، فهي تتحلل مائياً وبسرعة بواسطة الصف B بيتا لاكتاماز -الزئلك (راسموسين وبوش 1997، Rasmussen and Bush)، مثال ذلك، في سلالات العصوانية الهشة (*Bacteroides fragilis*) المعزولة من عدوى مرضى الجراحة. وقد تم وصف تركيب أشعة - (كس للبيتا لاكتاماز - المعدن CcrA metallo- $\beta$ -lactamases) CcrA

(توني وآخرون 1998, Toney *et al.*) والتي تستخدم في التصميم - المستند على - تركيب مثبتات تترازول الفينيل الثنائي (biphenyl tetrazole) التي تنسق للموقع - النشط الزنك وبالتالي فهي محددة لهذا الصنف البتالكاماز الممعدن. ولقد لوحظ ٥٠ ٪ التركيز المثبط حوالي ٠.٤ ميكرومتر لمثبط تترازول الفينيل الثنائي الأكثر فعالية، وكان هذا قد تبلور بالمشاركة لثبت الربط للموقع - النشط وتربط الزنك بواسطة أحد نيتروجينات حلقة تترازول. وقد يكون ذلك وإعداداً لإضافة الجزئيات للكارباينيمات، بنفس الطريقة التي أضيف بها كلافلونييت أو سلبكتام إلى بيتالكاماز للحصول على التوليفة التي تغلب على المقاومة - المتوسطة بصنف B بيتالكاماز. ولقد تم وصف سلسلة من المنتجات الطبيعية الحلقية الثلاثية ذات الفعاليات المتوسطة تجاه هذه المجموعة الفرعية من البتالكاماز (بايني وآخرون 2002, Payne *et al.*).

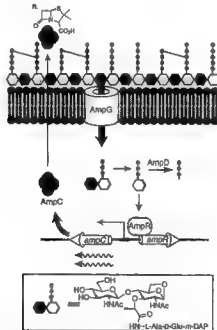
### تنظيم إظهار جين بيتالكاماز و/ أو التحلل الذاتي في وجود النيسيلين

بالإمكان طمر جينات بيتالكاماز في الريبوسومات البكتيرية، مثال جين *ampC* في البكتيريا المعوية أو جين *blaZ* في المكورة العنقودية الذهبية، أو بالإمكان حملها على نسخ متعددة من البلازميدات أو النقولات، كما هو الحال في جين *bla-1* في TEM في مختلف البكتيريا السالبة - غرام ذات المقاومة - العالية للنيسيلين الموجودة في العزل السريري. وعادة فجينات *bla* لا يعبر عنها بنويًا (جوهريًا) ولكن تُشغل عندما تظهر مضادات بيتالكاماز الحيوية في البيئة الدقيقة. وفي الآونة الأخيرة تمت تسوية نظم الإشارات (signaling systems) للكشف عن بيتالكاماز - الخارجية للإشريكية القولونية، المكورة العنقودية الذهبية والمكورة الرئوية وكشفت عن مسارات مختلفة لنقل الإشارة والتي يمكن أن تكون أهدافاً لعكس المقاومة المتوسطة - بالاكاماز.

### الإشريكية القولونية *E.coli*

في الإشريكية القولونية، تتحكم جينات *ampG, ampD, and ampR* في التعبير عن *ampC* - الذي يرمز بيتالكاماز (جاكوبز وآخرون 1997, Jacobs *et al.*). ويرمز جين *ampG* البروتين عبر - الغشاء الذي يعتقد أنه يعمل كإنزيم نفوذ (بيرميز) الذي يورد جزء من بيتيدوغليكان جدار الخلية الذي تم إطلاقه بواسطة تدمير الآلية الإنزيمية للربط المتبادل - عبر جدار الخلية عندما يبدأ البيتالكاماز أسلة (acylate) البروتينات المرتبطة بالنيسيلين ويمزق العملية المنظمة لإطالة البيتيدوغليكان وإعادة النمذجة (remodeling). والجزئي النقول بواسطة AmpG هو ثنائي السكريل ثلاثي الببتيد  $\text{GlcNAc-anhydroMurNAc-L-Ala-D-}\gamma\text{-Glu-meso-DAP}$  (disaccharyl tripeptide) (الشكل ٨.١٠)، الذي تم إطلاقه بواسطة العمل المتتابع لثلاث إنزيمات. الأول هو عمل الإندوبيتيداز (endopeptidase) ليفلق الروابط - التبادلية التي تمسك خيوط الببتيد سويًا. ومن ثم يأتي عمل الترانسغليكوزيلازات الحالة (lytic transglycosylases)، محفزة إضافة  $\text{C}_6\text{-OH}$  من مجموعة غليكوزيل في خيوط الجليكان إلى الموقع-١ (1-position)، ليفلق السكر بين الرابطة ويطلق ثنائي السكريد كإستيال نصفه داخلي (6,1-internal hemiacetal)

(MurNAc) اللامائي (anhydroMurNAc). وتتشأ سلسلة الببتيد الثلاثي من تقصير الببتيد الرباعي أو سلسلة الببتيد الخماسي بواسطة فعل كربوكسيبيبتيداز- L-D (L-D-carboxypeptidase)، الإنزيم الثالث المطلوب لإنتاج جزء الإشارة. والآن الببتيد الثلاثي GlcNAc-anhydroMurNAc، الجزئي الصغير الذواب، يستطيع أن ينتشر للحقل الخارجي لـ AmpG، يرتبط، وينتقل إلى داخل السيتوبلازم (الشكل ٨، ١٠)، حيث يستطيع أن يفتكك من AmpG. والآن بإمكان الببتيد الثلاثي ثنائي السكريد والذي تم إطلاقه إلى داخل السيتوبلازم أن يميز كربيطة (ligand) لـ AmpR، عنصر الانتساخت ويحوّله إلى الشكل النشط الذي يحرك انتساخت ampC، ثم يبدأ التعبير عن البيتاكتاميز. ويترجم AmpC بيتاكتاماز مع تعاقب إشارة نهاية-N (N-terminal signal sequence) التي تستهدفها لنقلها إلى الغشاء السيتوبلازمي وتقرّر إلى داخل الفراغ الجبلي، حيث تبدأ في تدمير مضاد البتاكتام بالتحلل المائي (مثال، كما في الشكل ٨، ٥). ويوجد بروتين AmpD كذلك في السيتوبلازم، وهو إنزيم أميديز (amidase enzyme)، يفلق GlcNAc-anhydroMurNAc tripeptide. وهكذا فهو يسهم عند المستوى القاعدي إلى الدائرة المنظمة السالبة، ويعمل تركيز الببتيد الثلاثي ثنائي السكري منخفض وجين ampC بعيداً (جاكوبس وآخرون 1997، Jacobs *et al.*). وعندما يكون توريد إشارة الببتيد الثلاثي ثنائي السكريل عند مستويات عالية بسبب تفریق جميع ببتيديالببتيدوغليكان المُحرّض - بالمضاد الحيوي، وافترضياً فإن الكمية في السيتوبلازم تترك سعة AmpD وتقلت لترتبط مع AmpR.



الشكل (٨، ١٠). مسار الإشارة للببتيد الثلاثي الهيدرومورايل (The anhydromuramyl tripeptide) لتحريض التعبير عن ampC في الإشريكية القولونية، الانتقال إلى السيتوبلازم بواسطة AmpG والارتباط مع AmpR لتخليص الكبت الانتساخي لـ AmpC، وإغراض AmpC إلى داخل الجبيلة.

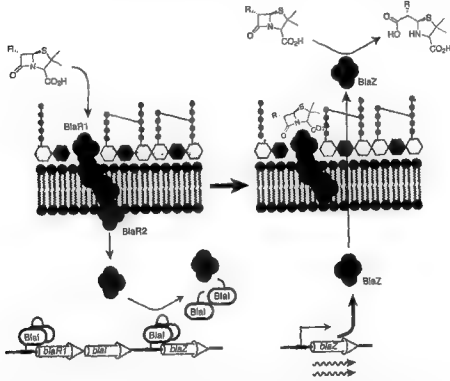
## المكورة العنقودية الذهبية

لقد لوحظت في المكورة العنقودية الذهبية طريقتان للمقاومة السريية ذات العلاقة. الأولى؛ بسبب إظهار بيتالاكتاماز BlaZ المرز بالكروموسوم، صنف A بيتالاكتاماز، الذي تم شرحه لاحقاً، والثاني هو الإظهار، في المكورة العنقودية المقاومة للمثسليين (MRSA)، ل PBP2A - غير حساس - للمثسليين جديد مرز بواسطة جين *mecA*، كما سيتم شرحه في الفصل العاشر. إن إظهار فعالية BlaZ بيتالاكتاماز محرض، والإظهار معطل في غياب البثسليين والكيفالوسبورينات في البيئة الدقيقة وتشتغل عند وصولهم إلى خارج الخلية. إن وظائف الاستشعار، التحول العبري (transduction) والتفعيل الانتساخي يتم توفيرها بواسطة اثنين من البروتينات المرمة بواسطة جينات *blaI* و *blaZ* التي توجد فقط ضد نيار الجين *blaZ* (الشكل ٨.١١). وجميع الجينات الثلاث هي تنظم سلباً في حالة السكون بواسطة بروتين *BlaI*، وهو بروتين 14-kDa الذي يصبح ثنائي الجزء (dimerizes) ويرتبط مع مواقع محرضة (promoter regions) لكبح الانتساخ.

وعندما تصل مضادات البيتالاكتام الحيوي إلى الوجه الخارجي للغشاء السيتوبلازمي حيث تطلتع بضع نسخ من بروتين *BlaR1* عبر البروتين، يكشف المضاد الحيوي وتحول الإشارة عبرياً. إن حقل إكسو (exo domain) ل-66 kDa *BlaR1* هو حقل PBP والإشارة الأولية تكون من خلال الأسلة التساهمية (covalent acylation) بواسطة البيتالاكتام، كما لأي حقل PBP (الشكل ٨.١١). إن تكوين وسيط إنزيم البثسليوليل التساهمي هذا في حقل إكسو (exo) هو مستشعر (ربما بواسطة تغيير التركيب في حقل PBP هذا) والإحتلال (الإشغال) المتحول خلال حقل عبر الغشاء وقرائنه بواسطة حقل 30-kDa الداخلي ل- *BlaR1*. يعد الحقل الخارجي من نوع PBP- *BlaR1* هو الأكثر ذا العلاقة لصنف D بيتالاكتامازات (ماسوف ومباشري 1998, Massova and Mobashery)، ومتطابق مع نشوء (تطور) حقل الربط / الاستشعار هذا من الصنف D بيتالاكتامازات (جويسين 1991, Ghuyssen). وهذا من شأنه أن يكون عكس تطور PBP إلى بيتالاكتامازات، واقترح في القسم السابق من هذا الفصل، مما يوحي بأن تطور البروتين قد ذهب في كلا الاتجاهين.

لدى حقل 30-kDa في داخل السيتوبلازم ل- *BlaR1* لديه علامات شكل طليعة إنزيم (proenzyme form) البروتيز - المعتمد على - الزنك (zin-dependent protease). وعندما يتشكل وسيط بنسليوليل - أو - سير (penicilloyl-O-Ser) على الحقل خارج السيتوبلازم، الحقل 30-kDa في الداخل ينحفض إلى انفلاق ذاتي بين فضالة (بقايا) ٢٩٣ و ٢٩٤ لتحرير الجزء السيتوبلازمي *BlaR1* 30kDa. توجد سوابق الانفلاق الذاتي لأشكال طليعة إنزيمات بروتيز الزنك وربما تكون متواسطة بواسطة تأثير التكتلات (التجمعات) في حقل بنسليوليل *BlaR1* إكسو (ماكيني وآخرون 2001, McKinney et al., زانج وآخرون 2001, Zhang et al.). وبشكل استثنائي، تُولد حادثة واحدة للتحول العبري للإشارة الحالة للبروتين (proteolytic signal transduction) الثانية مثلما يحرض *BlaR1* التحلل البروتيني ل- 14

BlaI kDa إلى الجزء 11-kDa الذي من الواضح أنه فقد القدرة ليكون ثنائي الجزء (dimerize) ويرتبط بمحرض دنا. والنتيجة التخلص من كبح إنتساخ BlaZ وBlaR1، وتؤدي نتيجة التنظيم العالي الانتساخي إلى إنتاج BlaZ بيتالاكتاماز، نقل BlaZ إلى خارج الخلية، التحلل المائي لمضاد بيتالاكتام الحيوي، ومقاومة اللاكتام.

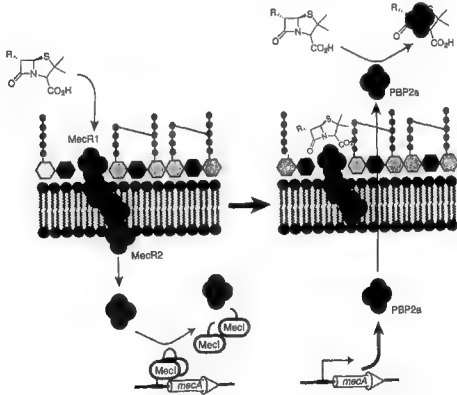


الشكل (١١، ٨). الخلل الوراثي blaR-blaI-blaZ للمكورة العقودية الذهبية ومسار إرتشاح الإشارة للتصو عن BlaZ لكتاميز في المكورة العقودية الذهبية: مترادف التحلل للبروتيني لـ BlaR1 وBlaI لتفعيل الجين.

تعدُّ BlaR1-BlaI من نظام ذا المكونات - الاثنتين ومنطقياً مشابه لاثنتين من مكونات - أنظمة الاستشعار / الاستجابة التنظيمية التي استخدمت أكثر من مرة عن طريق البكتيريا لتنظيم الجين في إنتاج المضاد الحيوي (CarR, CarI) ومقاومة المضاد الحيوي (VanS, VanR) (انظر الفصل الخامس عشر)، ولكن يستعمل هؤلاء نقل مجموعة فسفوريل (phosphoryl group) (من ATP إلى مستشعر-His إلى منظم-Asp) كمعلومات كيميائية لتبديل الحالة من "إيقاف" (off) إلى "تشغيل" (on). وفي BlaR-BlaI نظام - المكونات الإثنتين التبديل هو حال للبروتين (proteolytic). وبما أن التحلل البروتيني يعدُّ تبديل لا رجعة فيه بيولوجياً، بينما تعدُّ تحويلات الفوسفوريل تبديلات بيولوجية عكوسة (بفعل الفوسفاتاز phosphatase action)، فيجب أن تتجدد بروتينات BlaI وBlaR بشكل مستمر، مما يفسر التنظيم ذاتي

التولد (autogenous regulation) لها. وهذا النظام لا يقتصر على المكونة العنقودية الذهبية ؛ لأنه قد تم الكشف عن مماثلات BlaR1 في سلالات العنقودية الهشة التي تنتج كذلك بيتا لكتاماز مُحَرَّض.

وعلاوة على ذلك ، فقد تبين أن تنظيم عرض جين *mecA* وإنتاج PBP2A المرز الذي يجعل مقاومة الميثيسيلين في MRSA تكون منظمة بالكامل بالمنطق الموازي ، بواسطة النظام ذا المكونات - الاثنين *mecR1* و *mecI* ، مرة أخرى مع تجمع (تكتل) الجينات بواسطة *mecA* للتنظيم المنسق (الشكل ١٢، ٨). وكذلك يعتبر حقل إكسو التابع لـ *MecR1* عبارة عن PBP ، وهكذا فالأسر التساهمي للكتام يكون يبدأ حقل إنزيم لكتامويل - PBP - أسيل (lactamoyl-PBP acyl enzyme domain) الإشارة عبر الغشاء بنفس نوالي التحلل البروتي في *cis* للحقل السيئولازمي لـ *MecR1* ومن ثم التحلل ترانس *trans* يلفق *MecI* السليم ويحفف كبح جين *mecA*. إن غرس منتج جين *mecA* ، PBP2A في داخل الغشاء يسمح بالربط - التبادلي للبيتيدوغليكان الذي يعد غير حساس للميثيسيلين وغيره من مضادات بيتا لكتام الحيوية. وقد يكون منطق التحلل البروتيني ذا المكونات - الاثنين هذا أكثر عمومية. وعلى أي حال فهو يطرح الاحتمال بأن مسارات الإشارة هذه للطريقين لتحريض مقاومة اللاكتام في المكونة العنقودية الذهبية يجب أن تكون أهداف جديدة لمسح وتصميم المضادات الحيوية.



الشكل (١٢، ٨). منطق نقل إشارة للتعبير المنظم لمع PBP2A MecA يحدث مقاومة للميثيسيلين في MRSA.



## المكورة الرئوية

يؤدي البنسيلين الخارجي في المكورة الرئوية إلى الزيادة في نشاط التحلل الذاتي للتحلل المائي للبيتيدوبوغليكان والتعرض اللاحق للتحلل الأوزموزي (osmotic lysis) والموت . فقد أظهر التحليل الجيني (نوفاك وآخرون Novak *et al.*, 2000) منطق مسار نقل الإشارة يميز عن ذلك الذي يستعمل بواسطة الإشريكية القولونية والمكورة العقنودية الذهبية، تم شرحه سابقاً.

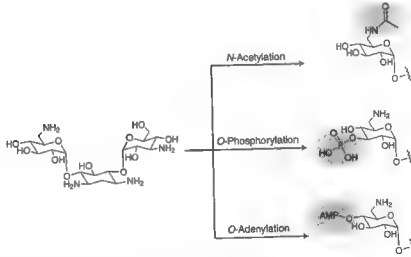
وكما سيتم شرحه في مكان آخر من هذا الكتاب (الفصل الخامس عشر)، تستعمل البكتيريا نوعان من أنظمة الإشارة لتوصل المعلومات من البيئة الخارجية عبر الغشاء إلى السيتوبلازم للتنظيم الجيني الانتقائي. أحدهما هو نظام - مكون البروتينات الاثنين، بواسطة إشارات عبر الغشاء لحقل بروتين هيستدين كيناز ومنظم الاستجابة الذي يعمل كعنصر انتساخ. ونظام الإشارة الثاني يعتمد على كثافة المزرعة البكتيرية ويستعمل جزئيات تفرز بواسطة خلية واحدة التي تنتشر نحو الجيران، ترتبط مع مستقبل/ وعنصر انتساخ، وتنشط الجينات مع التيار. وتعرف هذه بمستشعرات النصاب (quorum sensors) وفي البكتيريا الموجبة - لغرام تعمد؛ لأن تكون بيتيدات صغيرة. كما أن نظام المكونات - الاثنين (VncR-VncS) مطلوب لقتل البكتيريا بواسطة كل من الفانكوميسين والبنسيلين (نوفاك وآخرون Novak, 2000)، ويفترض أن تحفز تنظيم الجين للإنزيم الذاتي الحال LytA، بواسطة تعطيل استشعار VncS في تركيب بيتيد الببتيدوغليكان ونزع فسفرة VncR (dephosphorylating) ليربح إعادة انتساخ الجين. فقط عند منبع جينات *vncS* و *vncR* يوجد هيكل قراءة مفتوح يرمز ٢٧- فضالة بيتيد،  $Pep^{27}$ ، وثلاثة - بروتين ATP - الكاسيت الرابط - نوع مضخة ATPase (three-protein ATP-binding cassette-type ATPase pump) لتضخ  $Pep^{27}$  خارجاً لتعمل كمستشعر للنصاب وبيتيد معرض للموت على خلايا المكورة الرئوية المجاورة، والتفاعل بين  $Pep^{27}$  والمضادات الحيوية (مثال، كروابط لـ VncS عبر الغشاء) ليشغل التالي الحال غير المفهوم ولكن قد يكون نقطة تقاطع مشفرة لأهداف مضادات حيوية جديدة في المكورة الرئوية.

## الإنزيمات المعدلة - للأمينوغليكوسيد

لا يوجد لمضادات الأمينوغليكوسيد (أمينوسيكليتول aminocyclitol) الحيوية رأس حرب كيميائي مقارنة بالبيتالاكتام الذي يعتبر قلب الوحدة المؤسلة المضمورة في جميع أنواع البنسيلين، الكيفالوسبورينات، الكاربابينيمات والمونوكيتامات. وبالعكس فقد لاحظنا أن الأمينوغليكوسيدات تقرأ مواقع معينة من 16S rRNA في الوحدة الفرعية 30S بواسطة شبكة ربط الهيدروجين (انظر الفصل الرابع) خلال مختلف بدائل الهيدروكسيل والأمينو على حلقة سيكليتول لتتيح موقع إرساء عالي - الانجذاب لهذا الصنف من المضادات الحيوية. وإستراتيجية التدمير الإنزيمية للبكتيريا المقاومة - للأمينوغليكوسيد هي لتعدل تساهمياً تلك المجموعات  $OH$  and  $NH_2$  التي تتيح

– النوعية في الأمينوغليكوسيدات وبذلك تعرض مع التمييز بواسطة 16S rRNA. وفي بعض البكتيريا مثال السالبة  
 – لغرام الزائفة الزنجارية الممرضة، وبإمكان الغشاء الخارجي أن يكون كذلك حاجز أولي مهم لإدخال  
 الأمينوغليكوسيدات، بواسطة كل من التقليل من عدد قنوات المسامات في الغشاء الخارجي وكذلك بواسطة  
 التعديلات في النشرة الخارجية لعديد السكريد الشحمي (ليفرمور 2000، Livermore، بول 2001، Poole).

توجد ثلاثة أنواع من التعديلات الإنزيمية لمجموعات  $\text{OH}$  and  $\text{NH}_2$  على الأمينوغليكوسيدات وهي محددات  
 شائعة للمقاومة وتمثل متغيرات لإنزيمات النقل للمجموعة الأليفية للكهرباء الطبيعية التي تساهم في الإستقلاب  
 الأولي (للمراجعة انظر كوترا وآخرون 2000، Kotra *et al.*، ورايت 1999، Wright). و  $\text{ATP}$  هو أحد هذه المتفاعلات،  
 ويستعمل في كل من نقل أو - فوسفوريل ( $\text{O-phosphoryl}$ )، بواسطة مهاجمة مجموعة  $\gamma\text{-PO}_3$  أو  $\text{OH}_2$  أو  $\text{NH}_2$  أليف  
 النواة على  $\alpha\text{-P}$  التابع لـ  $\text{ATP}$  لنقل شطر AMP (الشكل ١٣ أ). والثاني هو مفعّل ديناميكي وحرارياً ولكنه مادة  
 مشاركة وثابتة حركياً في المجموعة أليفية الكهرباء للنقل الإنزيمي وهي  $\text{acetyl-CoA}$  ومجموعة  $\text{NH}_2$  للأمينوغليكوسيدز  
 التي تهاجم شطر أسيتيل ثيوستر لتنتقل مجموعة الأسيتيل. وتعدّ جميع التفاعلات الثلاث - الفسفرة (phosphorylation)  
 -الأدنلة (adenylation) والتأسّلت (acetylation) - غير عكوسة، ومدفوعة بواسطة  $7 \text{ kcal/mol}$  الذي تم إطلاقه  
 ويتوافق مع  $K_{eq}$  of  $10^3$  (والش 1979، Walsh) لصالح تعديل الأمينوغليكوسيد.



الشكل (١٣ أ). ثلاث طرق إنزيمية لتعطيل نشاط الامينوغليكوسيد: التأسّلت بواسطة أسيتيل  $\text{CoA}$ ، الفسفرة بواسطة  $\text{ATP}$ ، والادنلة بواسطة  $\text{ATP}$ .

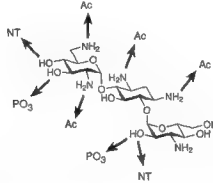
من المحتمل أن الإنزيمات -المعطلة لنشاط المضاد الحيوي سوف تنشأ من أدبيل ترانسفيرازات (نواقل الأدينيل)  
 (adenyltransferases)، فوسفوترانسفيرازات (نواقل الفوسفور) (phosphotransferases)، وإن -أسيتيلترانسفيرازات

(نواقل الأسيتيل) (*N*-acetyltransferases) التي تم إطلاقها من عمليات البناء الحيوي الطبيعية في الخلايا البكتيرية. وعلى سبيل المثال، فتحديد تركيب أشعة - إكس لـ APh(3') IIIa phosphotransferase من الميكروبات المعوية قد أظهر تشابه عالي لسيرين سويات النواة/ ثريونين بروتين كينازات (eukaryotic serine / threonine protein kinases)، بما يتفق مع النشوء من تمييز ركيزة البروتين-OH للهجوم على  $\gamma$ -PO<sub>3</sub> من ATP لتمييز هيكل أمينوسيكليول-OH (هون وآخرون 1997, Hon *et al.*) تحت الضغط الاتقائي للبقاء. ونظراً لتعدد مجموعات OH and NH<sub>2</sub> في الأجيال المتعاقبة للأمينوغليكوسيدات لرؤية الاستعمال السريع، فإنه ليس من المستغرب بأن تنشأ الإنزيمات المعدلة للنوعية الموسمية المتميزة للتأستل، الفسفرة والأدنة. ويظهر الشكل (A.14) النمط النوعي للتعديل التساهمي لهيكل أمينوغليكوسيد ثلاثي الحلقة. لقد تم وصف أكثر من 30 من الأشكال المشابهة لهذه الأنواع الثلاثة من الإنزيمات في البكتيريا المقاومة - للأمينوغليكوسيد، وتشمل بروتين الاندماج (fusion protein) مع اثنين من الحقلون المحفزة، حقل أدنيلترانسفيرازات وفوسفوترانسفيرازات (كوترا وآخرون 2000, Kotra *et al.*). يُصنف إن-أسيتيلترانسفيرازات حسب انتقائيتها الموسمية لتأستل N<sub>6</sub>- or N<sub>1</sub>,N<sub>2</sub>,N<sub>3</sub>- مع N<sub>6</sub> العائلة الفرعية الأكثر شيوعاً من أمينوغليكوسيد أسيتيلترانسفيرازات، التي تظهر نوعية واسعة نحو سقالات الأمينوغليكوسيد. كما أن وجود جينات الإنزيمات المعدلة على البلازميدات القابلة للانتقال يساعد على انتشار محددات المقاومة وربما يسرع نشوء النشاط المحفز نحو الأمينوغليكوسيدات التي أدخلت حديثاً.

وقد تم وصف بعض الإستراتيجيات التي تخرب التعديل الإنزيمي بواسطة مباشري وزملائه (Mobashery *et al.*), الذين يدرسون أحد أمينوغليكوسيد O-ترانسفيرازات. وعلى سبيل المثال يعاد ترتيب شبيه الأمينوغليكوسيد بمجرد أن يفسفر إنزيمياً إلى الأنواع الفعالة التي تعدل (تحول) تساهمياً O-phosphotransferase وتبعدها عن العمل (روستامدجي وآخرون 1995, Roestamadji *et al.*).

تشبه عائلة أسيتيل ترانسفيرازات المعطلة لفعالية فيرجيناميسين/ستربتوجرامين (-virginiamycin / streptogramin) inactivating acetyltransferases) أسيتيلترانسفيرازات المعطل لفعالية أمينوغليكوسيد الملقبة Vats (لفيرجيناميسين أسيتيلترانسفيرازات). ولقد لاحظنا في الفصل الرابع أن سينترسيد (Synercid) هو توليفة من ستربتوجرامين A ومكونات ستربتوجرامين B وأن مثيلة 23S rRNA (methylation) المتوسطة بـ Erm تؤدي إلى مقاومة ميكروبيد-لينكوسميد-ستربتوجرامين B، معطلة ربط مركب الستربتوجرامين B. وبالإمكان إزالة مركب ستربتوجرامين A بواسطة التدفق (بواسطة الآليات التي شُرح في الفصل التاسع) أو بواسطة التأستل-O على مجموعة هيدروكسيل حرة ومفردة (انظر الشكل 4.9، لتركيب دالفوبرستين (dalfopristin)). ولقد تم حل تركيب أشعة-إكس لـ VatD acetyltransferase

من المكورة المعوية البرازية (سوجانتينو ورودريك 2002, Sugantino and Roderick)، مما قدم نظرة ثاقبة للتصميم الهندسي لهذا الدواء- المعطل لنشاط الإنزيم لمكونات الستربتوجرامين A.

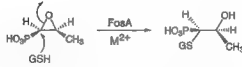


الشكل (٨،١٤). أنماط التعديل الإنزيمي الانتقائي الموصي وتعطيل نشاط مضادات الامينوغليكوسيد الحيوية. NT: نقل النيوكليوتيد، PO<sub>3</sub>: نقل الفوسفوريل، Ac: نقل الأسيتيل.

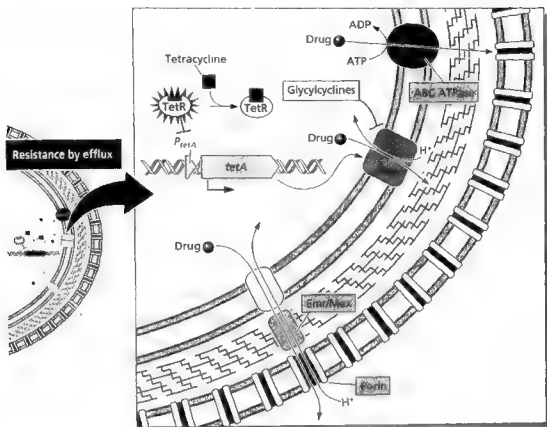
#### تعطيل النشاط الإنزيمي للفوسفوميسين (Fosfomycin)

يعدّ الفوسفوميسين شبيه لمضادات بيتالكتام الحيوية بمعنى أن لها كذلك رأس حرب كيميائي فعال، إيبوكسيد (epoxide) ثلاثي - الحلقة، مطمور في تركيبه الكيميائي البسيط (الشكل ٨،١٥). وتهاجم الإيبوكسيد بواسطة سلسلة الحمض الأميني الجانبية الفعالة، وفي هذه الحالة هي SH- من Ser في PBP's، في هدفها الإنزيم MurA عند بداية تجميع الببتيدوغليكان (انظر الفصل الثالث). يترك الموقع النشط ل MurA المشتق تساهمياً الإنزيم عاجزاً عن بدء تكوين إينول بيروفيل إثر (enolpyruvyl ether) في تحويل UDP-GlcNAc إلى UDP-MurNAc. وكذلك يشبه تدمير حلقة البيتاكتام بواسطة الأسر الإنزيمي للبيتالكتام النشط بواسطة أليف النواة البديل، الماء في حالة البيتاكتامات، يُحفز تدمير الفوسفوميسين بواسطة الإنزيمات التي تأسر الإيبوكسيد مع المادة المشاركة أليفة النواة القابلة للدوبان، وفي هذه حالة أنيون ثيوليت النشط (thiolate anion) للغلوتاثيون ثلاثي الببتيد (γ-Glu-Cys-Gly). والفوسفوميسين غلوتاثيون إس - ترانسفيراز (fosfomycin glutathione S-transferase) (FosA) هو مانحيز إنزيم ممدن (manganese metalloenzyme) (بيرنات وآخرون 1997, Bernat *et al.*) (الشكل ٨،١٥) الذي يولد فتح- الحلقة 2-OH ثيولير المقرية حيث يعطل نشاط رأس حرب الإيبوكسيد بمجرد أن يضاف جلوتاثيون ثيول (glutathione thiol) إلى C<sub>1</sub>. والغلوتاثيون هو الثيول الخلوي قليل- الوزن الجزيئي الأكثر وفرة في معظم الخلايا البكتيرية وسويات النواة، ويصل إلى مستويات ١ - ١٠ Nm. ويستعمل في حماية ونزع سمية المجموعات الكيميائية النشطة، كما في هذا المثال، بواسطة التنشيط العالية لثيوليتها الأليف النواتي. وإنزيم FosA تشابه مع كل غليوكساليز (glyoxalase)

كاتيكول (catechol) المعتمد - على المعدن - ليفلق دي أوكسيجيناز (dioxygenase) (بيرنات وآخرون, Bernat *et al.*, 1997)، تطابقاً مع النشوء من الإنزيمات المحلية للأبيض الأولي والثانوي.



الشكل (١٥، ٨). التعطيل الإنزيمي لنشاط فوسفوميسين بواسطة فتح حلقة إيبوكسيد مع غلوتاليون.



المقاومة بواسطة فعل  $H^+$  و ATP المقترن بمضخات التدفق في الأغشية البكتيرية.

## مقاومة المضادات الحيوية بواسطة مضخات التدفق ANTIBIOTIC RESISTANCE BY EFFLUX PUMPS

الطريقة الرئيسية الثانية التي تتجلى بها مقاومة الدواء في البكتيريا هي بواسطة التصدير النشط أو تدفق المضاد الحيوي للخارج بحيث إن التراكم العلاجي لا يتم بلوغها في السيتوبلازم البكتيري. ويُركز الشكل في مقدمة الفصل على جزء من الشكل (٢،٢) الذي يتناول المقاومة بواسطة التدفق النشط للمضادات الحيوية. ويتواسط التدفق النشط بواسطة البروتينات عبر الغشاء، في كل من الأغشية السيتوبلازمية وكذلك في الغشبة الخارجية للبكتيريا السالبة - لغرام، وتعمل البروتينات عبر الغشاء بمثابة مضخات تصدر المضادات الحيوية، وفي كثير من الأحيان ضد تدرجات التركيز (الجدول ٩،١). ويمكن أن يكون التدفق النشط ذا صلة سريرياً بمضادات بيتا لكتام الحيوية، الميكروليدات، ببتيدات بريسيتيناميسين، الفلوروكوينولونات، والتتراسيكلينات الأكثر كلاسيكية. وكما سنرى أدناه، بعض مضخات التدفق لها خصوصية (نوعية) ضيقة نسبياً مثال، مضخات التتراسيكلين، في حين أن البعض الآخر له احتمال (tolerance) واسع ويضيفي الأنماط الظاهرة للمقاومة المتعددة الأدوية (Mdr). وللبكتيريا أعداد كبيرة من مضخات التدفق، وتستعمل فسيولوجياً لتصدير الأيضات ولتضخ للخارج المواد السامة الغريبة. ومجموعة المضخات المتكاملة ذات الأنشطة المتداخلة يمكن أن تؤدي إلى قدرة (سعة) ملحوظة لضخ المضادات الحيوية إما كقدرة أضيضة مشفرة صغرياً والتي تجعل الزائفة الزنجارية غير حساسة داخلياً للمضاد الحيوي، وإما بواسطة إكتساب جينات ضخ محمولة على البلازميدات والترانسبوزونات (الينقولات).

### أصناف مضخات تدفق الغشاء

من تحليل المعلوماتية الحيوية تم وصف أربعة من عائلات بروتينات مضخات التدفق التي يمكن أن تعمل في مقاومة المضادات الحيوية (الشكل ٩،١). والثلاث الأولى تزاوج (تربط) تدفق الدواء نحو عكس اتجاه البروتونات، أو في بعض الأحيان نحو أيونات الصوديوم ( $Na^+$  ions)، بينما تستعمل العائلة الرابعة التحلل المائي لد ATP لتوفير الطاقة للتصدير النشط للمضاد الحيوي أو مركب آخر غريب خارج الخلية (بولسن وآخرون 1996, Paulsen et al.).

تصنف المضخات التي تدفعها قوة بروتون الحركية ( $\Delta pH$ ) (proton motive force) تحت العائلة الفرعية الكبيرة الميسرة (the small multidrug regulator (SMR)) family ((SMR))، أو عائلة RND (المقاومة/ التعبد/ التقسام الخلوية) (resistance/ nodulation/ cell division)، استناداً على الحجم البارز والحاجة لبروتينات شريكة ووحدات فرعية. والفئة الرئيسة الثانية من مضخات التدفق، تلك التي تحمل مائياً ATP، وتسمى عائلة الكاسيت الرابط-ATP (ATP-binding cassette (ABC) family). التوجه التخطيطي للأصناف الأربعة من مضخات التدفق في الغشاء السيتوبلازمي البكتيري يظهر في الشكل (٩.١)، مع تدفق معاكس لأيون الهيدروجين  $H^+$  أو التحلل المائي لـ ATP كآلية اقتران إلزامية للتدفق. في حين أن المضخات المدفوعة بـ ATP هي السائدة في سويات النواة، ومضادات الحُمال (الناقلين)- المشتقة من البروتون (the proton-driven antiporters) تسود في الجينات البكتيرية.

وعلى سبيل المثال، يتوقع أن يكون للإشريكية القولونية أعضاء 3 SMR و 4 RND و 18MFS، ليصبح المجموع ٢٦ مضخات تدفق مدفوعة بواسطة التدفق المعاكس للبروتونات، مقارنة فقط ٣ - ٦ مضخات ABC-type ATPase (بورجيرز - والمسلي ووالمسلي، 2001، Borges-Walmsley and Walmsley، ساير وآخرون Saier *et al.*, 1998). والمزيد من الحواشي (annotation) قد رفع الإجمالي المعروض من ٣١ - ٣٧ جينات متوقعة ناقلة للدواء للإشريكية القولونية (نيشينو وياماغوتشي، 2001، Nishino and Yamaguchi).

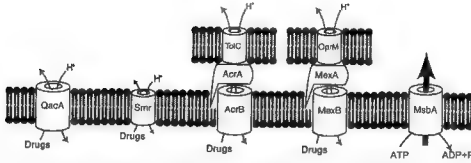
الجدول (٩.١). موجز لجوانب مقاومة الدواء التي قررت للمقاومة-متعددة الدواء-الحفَزة لمضخات التدفق (عدلت من بوتمان وآخرون

(Putman *et al.*, 2000)

Drug	MFS						ABC				ABC	
	12-TMS clusters			14-TMS clusters								
	AbiB	EmrD	YnfK	YnfN	YnfH	AcrR	AcrF	MexB	MexF	MexY		LmrA
Aminoglycosides	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\beta$ -Lactams												
Carbapenems									+	-	-	-
Cephalosporins									+	-	-	-
Penicillins								+	+	-	-	-
Chloramphenicol	+		+	-	-	-	-	-	-	+	-	+
Glycopeptides								-	-	-	-	-
Lincosamides												-
Macrolides												-
14-Membered	-		-	-	+	+	-	+	+	+	-	-
15-Membered												-
16-Membered												-
Novobiocin					-	-	-	-	+	-	-	-
Quinolones												-
Hydrophilic	-	+	-	+	-	-		+	+	-	-	-
Hydrophobic		+	-	+	-	-				+	-	-
Rifampin					-	-		+	+			-
Sulfonamides										-	-	-
Tetracyclines		-		-			+	+		+	+	-
Trimethoprim												-

بالإذن من بوتمان وآخرون 2000، Putman *et al.*





الشكل (٩،١). أربع عائلات بروتين فرعية للمضخات التدفق المعتمدة على-البروتون وعائلة ATPase لمضخة التدفق في المقاومة للمضاد الحيوي. (بالإذن من بولسن وآخرون 1996 Poulsen *et al.*).

العائلة الفرعية MFS، ممثلة بواسطة QacA (مركبات الأمونيوم الرباعية (quaternary) ammonium compounds)، التي تستعمل كمطهرات (disinfectants) وممانعة للمعونة (antiseptics)، كانت من بين أول المركبات الترابطية (ربطة) التي تم الكشف عنها لتكون مواد لمضخة التدفق هذه في الشكل (٩،١) لها أكثر من ٣٠٠ أعضاء محتملين في بدايات النواة وسويات النواة ويشمل عائلة إنزيم لاكتوز النفوذ (lactose permease) البكتيري LacY و glut من نواقل الغلوكوز في الإنسان. ويحتمل أن يكون الإستعمال لبعض أعضاء العائلة البكتيرية لتدفق الدواء، تغيير طفيف لنطاق واسع من الوظائف الفسيولوجية. يظهر الشكل (٩،٢) أن كل من النهايات الطرفية N-and C-terminals لمضخات MFS يحتمل أن تكون على الوجه الستوبلازمي، كما هو يمثل في هذا الإحتمال لبروتين QacA للمكورة العنقودية الذهبية. ويُعتقد بأن النهايات N لبروتينات الغشاء MFS تكون مشتملة في تنشيط النقل في حين أن النهاية C، الأكثر تغاير في التسلسل، قد تكون مشاركة في التمييز النوعي للربطة للتصدير.

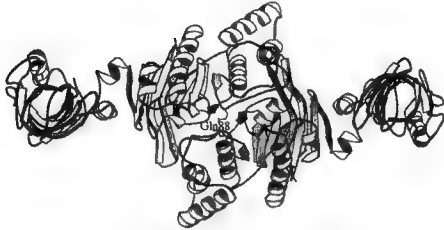
يتوقع أن يكون بعض مضخات MFS ١٤ لفة حلزونية عبر الغشاء: QacA، EmrB في الإشريكية القولونية، TetK من المكورة العنقودية الذهبية، TetL من العصية أليفة الحرارة العالية (*Bacillus sterothermophilus*)، وTcmA من الكائن المنتج المتسلسلة جلوسينيسيز (*Streptomyces glaucescens*) للتتراسينوميسين (tetracenomycin). وآخر لها ١٢ حقول TM محتملة: Bmr و Blt من العصية الرقيقة، EmrD من الإشريكية القولونية، NorA من المكورة العنقودية الذهبية، والبروتينات TetA، TetG و TetH من سلسلة من البكتيريا السالبة-لغرام (لوموفيسكايَا وآخرون 2001, Lomovskaya *et al.*). ولقد أنتجت بلورات ثنائية-الأبعاد لمضخة TetA، وأدت إلى نماذج (مجسمات) تركيبية ذات تمييز (تفريق)-منخفض (ين وآخرون 2000, Yin *et al.*). وأحد الفرضيات حول مصدر هذه العائلات الفرعية MFS هي النشوء بواسطة ازدواج الجين من طليعة جين ٦- عبر الغشاء شائع. وربما توظف مضخة QacA من تلقاء نفسها في سلالات المكورة العنقودية الذهبية الموجبة-لغرام، كما هو الحال مع مضخات التتراسيكليين TetL و TetK من السلالات الموجبة-لغرام. وللمضخات في السلالات السالبة-لغرام بروتينات شريكة في كل من الجلبة والغشاء



العائلة SMR هي بروتينات 12-kDa صغيرة، ولها أربع حقول عبر الغشاء محتملة، وربما تعمل كمحولات (oligomers). ويحتمل أن يكون لمضخات العائلة RND ١٢ حقول TM، ومرة أخرى ربما تنشأ بواسطة ازدواجية الجين من طليعة 6-TM. وفي الإشريكية القولونية تشتمل هذه العائلة على مضخات AcrB و AcrF و ACR مُرمز لمقاومة الأكردين (acrindine resistance)، وفي الزائفة الزنجارية تشتمل MexB (الشكل ٩.١) و MixD، وفي العزل السريري للنيسيرية السيلانية (*Neisseria gonorrhoeae*) المضخة هي MtrD.

ولقد تم وصف جميع مضخات نقل الدواء الثلاثين المحتملة المشتقة من بروتون- الإشريكية القولونية (أعضاء العائلة 20MFS, 3SMR, and 7RND) في بلازميدات متعددة النسخ في طفرة الإشريكية القولونية التي تنقفر إلى مضخة التدفق AcrAB (نيشينو وياماغوتشي (Nishino and Yamaguchi, 2001) وتم تقييمها لزيادة المقاومة لثلاثة عشر مضاد حيوي. انضمت ستة منتجات جين جديدة إلى ١٣ مضخة معروفة لتعطي ٢٠ من الجينات التي تصفي مقاومة دواء اثنين- طية أو أكثر لواحد على الأقل أو أكثر من المضادات الحيوية. وهذا قد يصنع مجموعة مكتبة مفيدة للبحث عن مضادات حيوية جديدة مرشحة لتكون حساسة لهذه المجموعة من المضخات.

العائلة الرابعة هي عائلة ABC من ATPase. وهي تمثل الأقلية من مضخات تدفق المضاد الحيوي ولكنها شائعة للغاية من نظام النقل عبر الغشاء. وعلى سبيل المثال، ويقدر أن يكون ABC-type ATPase 70 مشفر في جين الإشريكية القولونية، وتمثل ما يقرب من ٥٪ من الجينات. التنظيم النموذجي لبروتينات ABC هو أن تكون جزءاً من أنظمة نقل الغشاء متعددة المكونات، ويشمل مكونات البروتين الجبلي. وفي الإشريكية القولونية، يتوقع أن تكون جينات ABC 44 جزء من أنظمة القبط (الامتصاص) من الجلبة في حين أن ١٣ يتوقع أن تكون مخصصة لتصدير الريبطة. ويشمل تنظيم الحقل النموذجي حقلين ذوي رهبة للماء (hydrophobic)، مطمورين كمسامات عبر الغشاء، وحقلين أليفين للماء (hydrophilic) على الوجه السيتوبلازمي للغشاء اللذين يفيدا كريط ل ATP ومواقع التحلل المائي. وتشاهد مختلف التشكيلات (configurations) للحقول، من أربعة-حقول عديد الببتيد مفرد إلى أربع وحدات فرعية منفصلة. ويحدث التشكيل الأخير في نظام مالتوز النفوذ (مالتوز بيرميز) (maltose permease system) في الإشريكية القولونية MalG. MalF. MalK، حيث إن MalK هو الوحدة الفرعية ABC (الشكل ٩.٣). ولقد تم وصف تركيب أشعة-إكس لحقل ربط النيوكليوتيد (nucleotide binding domain (NBD الخاص بمضخة MalK (هونج وآخرون 1998، Hung et al.)، معطياً صورة أساسية لحقل ATPase الحفّاز ولكن لا يظهر كيف يتفاعل NBD مع حقول عبر الغشاء (TMDs) (transmembrane domains)، وكيف أن رُسو معقد MalK-ATP مع وحدة الغشاء الفرعية MalF/MalG يثير التحلل المائي ل ATP، أو كيف تستخدم الطاقة المخزنة للتغيرات التكوينية للبروتين لتفتح مؤقتاً مسام للمالتوز ليضخ للمداخل.



الشكل (٩,٣). نظام نقل ماليز الإشريكية القولونية: الشكل الهندسي لـ MsbA. (بالإذن من ديدريتشز وآخرون (Diederichs et al., 2000).

ولقد تم الحصول على حدث مهم في فهم التصميم الهندسي للناقل ABC-type بواسطة تبلور لبروتين MsbA من الإشريكية القولونية، عند تفريق-منخفض نسبياً (4.5 Å) (تشانج وروث (Chang and Roth, 2001)، ولكنه كافٍ ليظهر توجه NBDs نحو TMDs ويسمح للنموذج لعمل الناقل. والـ MsbA مشابه لـ MDR-1 في البشر و MDR3 في الفئران، وناقلاً للمقاومة متعددة الدواء والتي يعتقد بأنها تعمل فيسولوجياً كشحم (كدهن) وشحم فوسفوري (phospholipid) "فليبازات" (flippases)، لتقل جزئيات الشحم الفسفوري من الطبقة الداخلية إلى الطبقة الخارجية لطبقة الغشاء الثنائية. وينقل MsbA الإشريكية القولونية الدهن (الشحم) A (lipid A) (انظر الفصل الخامس عشر) خلال الغشاء الداخلي إلى الغشاء الخارجي للغلاف السالب-لغرام، حيث يعد الشحم A مكوناً تركيبياً رئيسياً. ويقترح بأن MsbA وشبيهاته يعمل "كمكانس كهربائية راهبة للماء" "hydrophobic vacuum cleaners" لتزليل الدهن والدوية الراهبة للماء من ورقة الغشاء الداخلي (تشانج وروث (Chang and Roth, 2001، رافيف وآخرون (Raviv et al., 1990)، يتبلور MsbA كمثنوي متجانس (homodimer)، مع حقل اللغات الجليزية عبر الغشاء (بطول 52 Å) لتمد الغشاء عند ميلان 30° - 40° من المستوى الطبيعي للغشاء، لتوجد حجرة (غرفة) بين المشويات تكون كبيرة بشكل كافٍ لترتبط بربطة الدهن A (lipid A ligand A) (الشكل ٩,٤). ويعتقد بأن المنطقة التي تربط بين TMD و NBD، المعششة في الموقع المائي على الجانب السيتوبلازمي من الغشاء، بأنها تقترب بالتغيرات التكوينية من ربط ATP والتحلل المائي في NBD نحو TMD في الغشاء. والنماذج المقترحة بواسطة تشانج وروث (Chang and Roth, 2001) تسمح بتوظيف الدهن أو الدواء من الورقة (السيتوبلازمية) السفلى من الطبقة الثنائية للغشاء إلى داخل الحجرة كخطوة ربط/وفصل (عزل) (الشكل ٩,٤ B). ويستشعر ربط ATP إلى NBD بواسطة TMDs التي تتناوب لتغلق الحجرة وتغلق مجموعة من الشحنات من اللغات الجليزية TM إلى داخل الحجرة المغلقة. وهذا سوف يزعزع ثبات

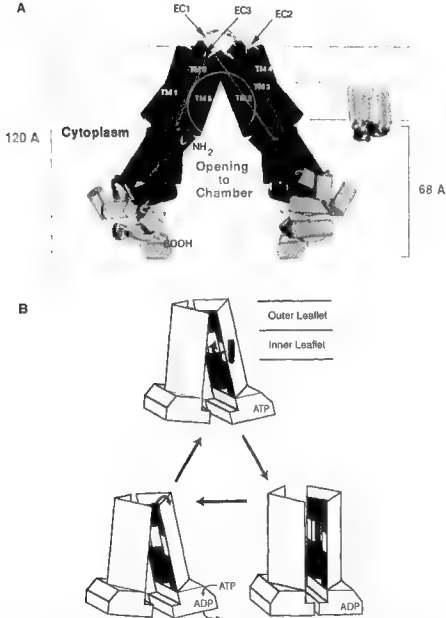
البيئة الدقيقة للربطة الراهبة للماء، والسماح بالتقليب نحو الموضع النشط الأكثر ملاءمة في الجزء العلوي من الحجرة استعداداً لدخول الوريقة الخارجية للغشاء (تشنج وروث 2001، Chang and Roth). وفي حين أنه قد لا يكون MsbA النموذج الجيد للنواقل التي تحرك الربطات الراهبة ألفة الماء، فمن الأرجح أن يكون نموذجاً لنواقل ABC التي تحرك تلك الراهبة للماء، ويشمل المضادات الحيوية. ولاحظ تشانج وروث (2001، Chang and Roth) بأن الحجرة يمكن أن تستوعب وتنقل تشكيلة واسعة من الجزيئات، متطابقة مع الانتقائية المنخفضة للنواقل من النوع-MDR، وأيضاً أن MsbA (والنواقل ذات العلاقة) لا تعمل كمضخة ولكن "كماكنة جزيئية تسمح وريقة الطبقة الثنائية السفلى للركائز، وتقبلهم جانبياً، وتقبلهم إلى وريقة الغشاء الخارجي".

الناقل البكتيري الثاني من النوع ABC، في هذه الحالة هو زوج البروتين BtuCD للإشريكية القولونية، ينقل الربط ألف الماء فيتامين B<sub>12</sub>، تم كذلك حله مؤخراً بواسطة تحليل أشعة-إكس عند تفريق 3.2 Å (لوش وآخرون 2002، Locher et al.). والناقل الوظيفي هو المربع المغاير BtuC<sub>2</sub>BtuD<sub>2</sub> (heterotetramer)، حيث الوحدة الفرعية BtuC تعدد كصمولة للغشاء، ذات ١٠ لفات ألفا -جلزية (α-helices) لكل وحدة الفرعية، و BtuD هو كاسيت ATPase. وفيتامين B<sub>12</sub> على الوجه الجيلي يقدم نحو الوجه الخارجي لـ BtuC<sub>2</sub> بواسطة البروتين الرابط الجيلي BtuF، ويبدأ إشارة عبر الغشاء التي تؤدي إلى التحلل المائي لـ ATP وضربة القوة المفترضة التي تفتح القناة بين الوحدات الفرعية BtuC ليسمح بمرور فيتامين B<sub>12</sub>.

يعتبر توجيه حقول ATPase نحو جزء البروتين الممتد- للغشاء (membrane-spanning protein) وكذلك العدد وتوجيه اللغات الجلزية في BtuC يختلف عن الناقل MsbA. وسوف توجد النواقل الاثنتين المتغايرة ABC برنامج جديد لتصميم وتحليل الربطات البديلة ومحصرات لوظيفة القناة.

وفيما يتعلق بمضخات المضاد الحيوي في عائلة ABC، المقاومة للإريثروميسين في العزل السريري للمكورة العنقودية البشرية (*Staphylococcus epidermidis*) (تشو وآخرون 1996، Chu et al.) هي بسبب جين *msrA*، الذي يُرمز (بشفر) مثل الوحدة الفرعية ATPase لضخ الإريثروميسينات ويريستينوميسينات (pristinomycins) للخارج. وكذلك، مضخة LmrA من المكورة البنية لاكتيس (*Lactococcus lactis*) هي مضخة MDR واسعة-المدى. عندما أظهرت المرشحات الخمس من نوع ABC-أطر (هياكل) فتح القراءة من الإشريكية القولونية وحللت كمضخات تدفق للميكروليد إريثروميسين، تم العثور على زوج الجين *ybjYZ* لترميز مثل هذه المضخة ومن ثم تمت إعادة تسميته *macAB* (كوياشي وآخرون 2001، Kobayashi et al.)، انظر كذلك نيشينو وياماوجوشي Nishino and Yamaguchi, 2001). ويعتقد بأن MacA يمر خلال الغشاء سيتوبلازمي مرة واحدة ويكون معظمه في الجيلة؛ في حين يعتقد بأن MacB يكون بروتين داخل الغشاء الداخلي مع الحقل السيتوبلازمي ATPase. وكما لوحظ في الشكل

(٩١) وشرح أدناه، هناك حاجة لبروتين خارج الغشاء لتكملة تدفق الرابطة عبر الغشاء الخارجي ويزود بواسطة البروتين TolC. ونظراً لتراكيب أشعة-إكس لـ MsbA (الشكل ٩.٤) و TolC (انظر الشكل ٩.٦)، فنحن نقترح من معرفة التصميم الهندسي الجزئي لمضخات تدفق المضاد الحيوي متعددة المكونات.



الشكل (٩.٤). رسم تخطيطي لنواقل ABC. (أ) المتوي MsbA وتوجيهه نحو وريقات الغشاء ثنائي الطبقة. (ب) رسم لنافذة الدهن A بواسطة الإشرية القولونية MsbA. (بالإذن من تشانج وروث 2001 Chang and Roth).

### وظيفة مضخات MFS و RND في التدفق الفسيولوجي والمضاد الحيوي

بدأ الدور الفسيولوجي لمختلف مضخات MFS و RND أن يُحل ليُعطي بعض المفاتيح عن كيف يمكن أن يتكيفوا أو أن يستولى عليهم لتدفق زينو بيوتك (xenobiotic) أو المضاد الحيوي. ويظهر أن مضخة Blt من العصية الرقيقة تستعمل لتدفق سيبرميدين (spermidine) وتنسخ مع سيبرميدين أسيترانسفيراز (spermidine acyltransferase) (بولسين وآخرون 1996, Paulsen *et al.*). وهو محبوس لتصدير المضاد الحيوي. كما يظهر بأن مضخة Ptr من عائلة MFS في المتسلسلة بريستينيسبيراليز (*Streptomyces pristinaespiralis*) تكون مضخة مناعة ذاتية (autoimmunity pump) لهذا الكائن عندما تبدأ تشغيل إنتاج بريستيناميسينات I و II؛ لأن كل منهما معرض إنتساخ ptr. ولقد لاحظنا مضخة تدفق OleB للغليكوزيل-أولياندوميسين في المنتجين المتسلسلة أنثيبوتيكتس (*Streptomyces antibioticus*) في الفصل السابع كجزء من آلية المناعة لمضاداتها الخاصة.

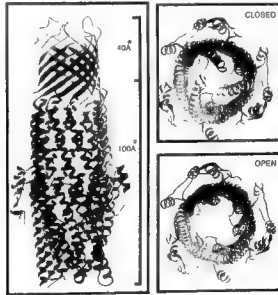
في مضخات العائلة الفرعية RND، افترض بأن المُشغل الوراثي MexA-MexB-OprM (الشكل ٩،٥) يشارك في إفراز البيبتيد غير الريبوسومي حامل الحديد بيوفيردين (siderophore pyoverdine) بواسطة الزائفة الزنجارية في البكتيات الناقصة الحديد.



الشكل (٩،٥). تنظيم المُشغل الوراثي لمكونات - الثلاث لمضخات التدفق Mex في إزالة الزائفة الزنجارية والمُشغل الوراثي *acrA-acrB* في الإشريكية القولونية.

ويتطلب وجود اثنين من حواجز الغشاء في البكتيريا السالبة -لغرام مكوّن مضخة في كل من الإغشية الداخلية والخارجية وبعض بروتينات التوصيل لتكون جسراً للجيلة أو لتجعل الغشائين في اتصال مؤقت (الشكل ٩،١). هذا الثلاثي من البروتينات جند لتدفق التتراسيكلينات، سبروفلوكلوكساسين، كلورامفينيكول، وبيتاكتامات. وفي الحقيقة توجد أربعة من مثل مضخات التدفق من عائلة RND متعدّدة المكونات في الزائفة الزنجارية، مع نطاقات متداخلة لضخ المضادات الحيوية للخارج بحيث إن المجموع يجعل الممرض غير حساس داخلياً لمعظم المضادات الحيوية. وربما يكون لنظام Acr في الإشريكية القولونية دور فسيولوجي لضخ حمض الصفراء والأحماض الدهنية للخارج لتقليل سميتها (بولسين وآخرون 1996, Paulsen *et al.*). AcrB هو مركب بروتين الغشاء الداخلي، بينما AcrA يعتقد بأنه يمد الجيلة (الشكل ٩،١) ويتفاعل مع المسام العام للغشاء الخارجي/ بروتين القناة، المقترح على الخلفية الوراثية لأن يكون البروتين TolC (فراليك 1996, Fralick). كما لوحظ أدناه كعنصر (مركب) لقناة الغشاء الخارجي لنظام إفراز الحال الدموي (hemolysin secretion system).

بواسطة بروتين الغشاء الخارجي للإشريكية القولونية TolC (الشكل ٩٦) أن يتفاعل مع العديد من مختلف إنزيمات نقل الموضع ترانسلوكلات (translocases) للغشاء الداخلي لتكوّن قنوات عبر كلا الغشائين لتتج نفق من السيولازم إلى البيئة الخارجية التي يمكن أن تجتاز بواسطة كل من الجزيئات الصغيرة والبروتينات الكبيرة التي تم تصديرها (انظر "آلية إفراز البروتين في الممرضات السالبة- لغرام وعلاقتها بالمرض": أسفل) (كوروناكيس وآخرون 2000, *Koronakis et al.*). وهكذا فيعد TolC النموذج لبروتين الغشاء الخارجي الشريك لمضخات تدفق السالبة-لغرام. وأظهر تحليل أشعة-إكس (كوروناكيس وآخرون 2000, *Koronakis et al.*) للمثلث (trimer) الوظيفي لكل من حقل ١٢- الحلزوني بيتا- باريل (برميل - بيتا) (12-stranded  $\beta$ -barrel) (أربعة لكل موجود) وحقل ألفا- الحلزوني (12-stranded  $\beta$ -barrel) (الشكل ٩٦ اللوح الأيسر) المجاور لحقل باريل. وهناك جدل بأن الحقل بيتا باريل، النوعي لتراكيب مسام الغشاء الخارجي (كوبينيك وآخرون 2000, *Koeblnik et al.*) يحد جزء الغشاء الخارجي ومن ثم الموضع الحلزوني يتأ إلى داخل ومن خلال الجبلية ليكون تفاعلات، عن طريق تفاعلات ملف-ملف (coil-coil interactions) مع حقول الملف- الملفوف لزوج ترانسلوكاتز الغشاء الداخلي، مثال، AcrAB. وبمجرد عزله، تغلق القناة في برميل ألفا-الحلزوني ل TolC، كما يظهر في المنظر العلوي للشكل (٩٦) (اللوحات اليمنى). ويفترض بأنه أثناء تدفق الجزء الصغير والبروتين خلال هذه القناة، تتوسع القناة الداخلية بدوران اللغات الملفوفة، وفك التولب التبايني التجسيمي، المحرض بواسطة تفاعل البروتين-البروتين مع مكونات الغشاء الداخلي للمضخة (كوروناكيس وآخرون 2000, *Koronakis et al.*). يستطيع الشكل المفتوح أن ينتج قطر نفق TolC (اللوحة الأسفل) بمقدار 30. وعندما يفصل TolC مرة أخرى من شركائه في الغشاء الداخلي مثال AcrAB، فسوف يعود للحالة المغلقة ليتجنب تسرب المكونات الجبلية.

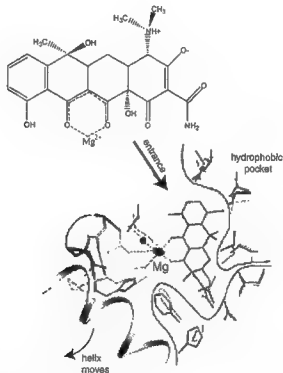


الشكل (٩.٦). (اليسار) التصميم الهندسي لـ TolC، (اليمن) نماذج لـ TolC في الحالات المفتوحة والمغلقة (معدلة من كوروناكيس وآخرون 2000, *Koronakis et al.*)، بالإذن.



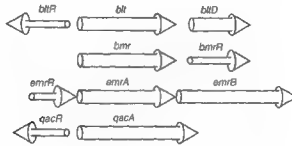
## تنظيم مضخات التدفق

من أفضل مضخات تدفق المضاد الحيوي التي تمت دراستها ربما تكون مضخات التتراسيكلين، مع TetA-L التي ذكرت أعلاه كأعضاء عائلة MFS في كل من البكتيريا السالبة والموجبة-لغرام. وعندما يدخل التتراسيكلين مثل هذه الخلية البكتيرية، فإنه يرتبط بالانجذاب عالي مع البروتين، TetR، الذي يعمل ككابت لجين مضخة Tet، *tetA*، في الإشريكية القولونية. ويخلص معقد TetR-Tet الكبت السالب (negative repression) المرتاح لإظهار جين مضخة Tet. وتركيب TetR مع وبدون ربيطة التتراسيكلين، المرتبط مع Tet المشغل دنا أظهر أن الربط لمعقد ماغنيسيوم ( $Mg^{2+}$ )-تتراسيكلين يجعل TetR يفقد الانجذاب لموقع دنا الخاص به (أورث وآخرون 2000 Orth *et al.*) (الشكل ٩.٧). يبلغ  $K_d$  لربط معقد الماغنيسيوم - والتتراسيكلين مع TetR حوالي  $10^{-9}$  M، بعض ألف - طية أضيق من  $10^{-6}$  للربط مع الريبوسوم 30S، وبذلك فالتخلص من الكبت الانتساخي ل*tetA* يرتد عند مستويات منخفضة للدواء في الخلية البكتيرية. وعندما يرتبط  $Mg^{2+}$ -تتراسيكلين مع TetR، يهبط انجذابه ضد تيار دنا *tetA* ويقدر بحجم تسعة درجات (أورث وآخرون 2000 Orth *et al.*)، بواسطة الربيطة - المحرصة، بحركة - تشبه عقرب الساعة لأحد اللفات الحلزونية في TetR التي تبعد حقول ربط دنا.



الشكل (٩.٧). التركيب الأساسي للتخليص من الكبح لإنتساخ *tetA* عندما يرتبط الماغنيسيوم- التتراسيكلين مع TetR. (بالإذن من أورث وآخرون 2000 Orth *et al.*).

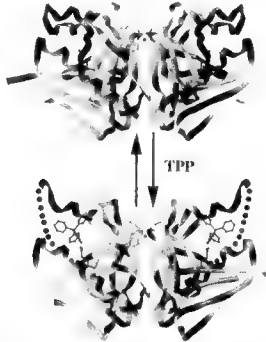
بعد ذلك يحدث فرط إنتاج بروتين المضخة TetA 42-kDa، ويفرس داخل الغشاء سيتوبلازمي. ويعمل في حالة ضد المنفذ مع دخول البروتونات لتضخ التراسيكلين للخارج وقد تكون مضخة تدفق Tet نشأت من مثل هذه المضخة في متجني التراسيكلين. مثال ذلك تلك التي ترمز بواسطة جين *otrB* في المتسلسلة ريموسس (*Streptomyces rimosus*) (ماكموري وآخرون 1998). ويبدو أن منطق دائرة التنظيم هذا مخصصاً للمُشغِّلين (operons) في الزائفة الزغمارية لجينات *MexM*, *MexB* and *oprM*، والمحكم بواسطة الكايخ *mexR* المستنسخ بشكل متباعد (متشعب)، لنظام جين *mtr* المقارن في النيسيرية السيلانية (الشكل ٩.٨)، وكذلك للمُشغِّل *AcrF,E,S* في الإشريكية القولونية.



الشكل (٩,٨). منطق الدائرة التنظيمية لجينات مضخة التدفق.

وبالمثل فحين مضخة *bmr* في العصية الرقيقة هو تحت التحكم الانتساخي بواسطة جين *bmrR*، الذي يرمز الكايخ. ويعمل Bmr كمضخة تدفق للكاتيونات أليفة الدهن، مثال أيونات تريباميل فوسفونيوم (trimethylphosphonium ions) وكذلك للكوينولونات، الكلورامفينيكول، ودوكسوروبيسين (doxorubicin). ولقد تم حل تركيب أشعة -إكس للكايخ BmrR، الحر والمعقد مع تريباميل فوسفونيوم (triphenylphosphonium) (الشكل ٩.٩)، مشيراً بأن الرابطة أليفة الدهن تُعرض الكشف (التجلي) الانتقائي وإعادة تموضع الحلزون-ألفا. وهذا يكشف جيب ربط الداء الذي يتفاعل مع الرابطة بواسطة التراص الزاهب للماء وبواسطة الاقتران الكهربائي الساكن (electrostatic pairing) مع أنيون غلوتامات كاربوكسيلات (glutamate carboxylate anion) المدفون (انظر الشكل ٤ و ٥ في زيليزونفا وآخرون 1999). Zheleznova *et al*, يعتبر انتقال الحلزون إلى -اللفة وإعادة تعبئة الحقل الرباط BmrR مطلب لتمييز الانجذاب العالي. وقد استعمل برينان وزملائه (Bernnan and colleagues) هذه الملاحظة للاقتراح بأن هذا المنطق ربما يُستعمل لربط وتمييز الدواء بواسطة بروتينات مضخة تدفق الغشاء، مثال ذلك Bmr (زيليزونفا وآخرون 1999) Zheleznova *et al*, (2000)، EmrA و B.QacA وغيرهم من عائلة MFS، والعديد منها له غلوتامات محفوظ في الحقل عبر الغشاء، كما تفعل المضخات من عائلة SMR. ويقترحون بأن الأجزاء الزاهبة للماء من المضادات الحيوية تنقسم داخل الغشاء السيتوبلازمي عند الوريقة الداخلية. وإذا حدث لحقل ربط الرابطة لمضخة التدفق تغييرات تكوينية مؤقتة بواسطة

انتقالات الجليز - إلى - اللفة، مع واحدة من التكوينات تكشف الغلوتامات المدفونة لترتبط بالربطة، فسوف يجد المضاد الحيوي هذا الموقع بواسطة المواجهة الانتشارية ثنائية - الأبعاد (two-dimensional diffusional encounter).



الشكل (٩،٩). ربط الكاتيون ألفا الدمع أيون تريبتيل فوسفونوم مع الكابح BmrR. (بالإن من زيلينولا وآخرون 1999, Zheleznova).

كيف يتعقد الدواء- والمضخة ثم يستشعر  $\Delta pH$  عبر الغشاء ويطرد غير إيجابياً المضاد الحيوي إلى الخارج في حالة التجاذب - منخفضة لا يزال يتعين تحليله.

يعتبر تنظيم جينات المسام والمضخة ذا أهمية إكلينيكية في معالجة عدوى الزائفة الزنجارية بالكاربابينيم (إيني وآخرون 2001, Enne *et al.*). وبإمكان طفرات النقطة (point mutations) في جين *mexR* أن تؤدي إلى أشكال طفرة MexR لهذا البروتين الكابح ذا الانجذاب المنخفض للأهداف المعززة، ليسمح بالتخلص من الكبح. وذلك طريق عام للتنظيم العالي لمُشغل *mexA- mexB-oprM* الذي ذكر سابقاً. ومضخة التدفق - ثلاثية المكونات، واسعة المدى هذه تتيح بوابة خروج الكوينولونات، التتراسيكلين، كلورامفينيكول، والبيتالاكتامات الطبيعية. ومن الكاربابينيمات الاثنين المصادق عليهما، الإيميبينيم الذي يفتقر للسلاسل الجانبية أليفة الدهون، لا يتم تصديره. والميروينيم، بسلسلته الجانبية الحلقية غير المتجانسة، يُضخ للخارج. وترتفع التراكيز الدنيا المثبطة (MICs) نموذجياً من ٠.١٢ - ٠.٥ ملغم / لتر.

ومن ناحية أخرى، فاستعمال الإيميبينيم يتتق لطفرات الزائفة الزنجارية العديدة مسام الغشاء الخارجي OprD، وغياب ذلك المسام يحد من دخول الدواء، وترتفع قيم MICs للإيميبينيم من ١ - ٢ ملغم / لتر إلى ٨ - ٣٢

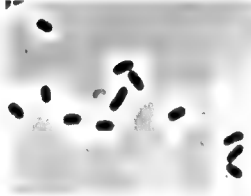
ملغم/ ليدر (إيني وآخرون 2001، Enne *et al.*). وللميروبيتم كذلك بعض العبور خلال OprD لأن التراكيثز الدنيا المثبطة في السلالات في هذه الطفرات يرتفع بدرجة تصل إلى ٢ - ٤ ملغم/ليتر. ولاحظ ليفرمور (Livermore, 2000) أن هذه المشاهدات قد تفضل استخدام الميروبيتم؛ بسبب أن طفرتين اثنتين (*oprD* و *mexR*)، عند تضاعف قليل التردد، مطلوب لجعل قيم MIC للميروبيتم خارج النطاق المفيد. ولحظ الآلية الإضافية للبيتا-لاكتامازات المعدنة والتي تعمل كإنزيمات كارباينيمازات (carbapenemases) (الفصل الثامن) كمحدد مقاومة إضافي.

### انخفاض نفاذية الغشاء الخارجي للإشريكية القولونية O157:H7

لقد ذكرنا مسبقاً في هذا الفصل وغيره في هذا الكتاب بأن بكتيريا هي مُمرضات أفضل من غيرها. تقوم البكتيريا الزائفة الزنجارية السالبة - لعرام بعمل جيد في المحافظة على تركيز المضاد الحيوي داخل الخلية منخفض بواسطة كل من تحريك العديد من مختلف مضخات التدفق، وكذلك بواسطة الحد من الامتصاص بواسطة إظهار بروتينات مسام الغشاء الخارجي، بورتينات (porins) التي تحد من انتشار المضادات الحيوية للدخل وغيرها من الجزيئات الصغيرة المضادة للبكتيرية. وقد بينت الدراسات الحديثة (مارتينيز وآخرون 2001، Martinez *et al.*) بأن حاجز النفاذية الخارجي للسلالات الفوقية، السامة للإشريكية القولونية قد يكون أيضاً أكثر تقييداً لتخلل (نفوذ) المضاد الحيوي. والإشريكية القولونية O157:H7 اكتشفت لأول مرة في ١٩٨٢م في اللحم البقري غير المطبوخ جيداً والتلوث - برازياً، الذي يسبب إلى نحو ٧٥,٠٠٠ حالة من العدوى سنوياً في الولايات المتحدة، وفاشيات التهاب القولون الدموي التي يمكن أن تتطور إلى المتلازمة البولية الحادة للدم (hemolytic uremic syndrome) (ميد وآخرون 1999، Mead *et al.*) (الشكل ٩,١٠).

تدخل سلالة O157:H7 خلال المعدة وتستعمر الخلايا الظهارية في الأمعاء، وتكاثر وتنتج السم. وأحد مكونات السم يتفاعل مع الدهن السكري (جليكوليبيد) (glycolipid) للغشاء وغيره ومن ثم يدخل الخلايا ويعرقل البناء الحيوي للبروتين (انظر كابر وأوبراين 1998، Kaper and O'Brien، كارمالي 1989، Karmali). تظهر الإشريكية القولونية O157:H7 مقاومة للستربتوميسين، التتراسيكلين، وأدوية السلغا وربما تفعل ذلك من خلال التقليل من نفاذية الغشاء الخارجي للامتصاص. وستعمل مارتينيز وآخرون 2001، Martinez *et al.*، الفحص (المقايسة) الحركي للكشف عن نشاط الفوسفاتيز القلوي الجليبي (periplasmic alkaline phosphatase) لحساب ذلك، مقارنة بالكونترول السلالات غير الفوقية، للإشريكية القولونية O157:H7-6 أضعاف أقل نفوذية للجزيء الصغير المادة الأنيونية وإنقاص ألف-ضعف لتحول العائنة (phage transformation). والتسلسل الحديث لمجين الإشريكية القولونية O157:H7 (بيرنا وآخرون 2001، Perna *et al.*) قد أظهر أعداد صغيرة من التغيرات في المسامات الرئيسة OmpC، OmpF ضمن ٣٨٧ جينات من ٣,٥٠٠ التي تعتبر مختلفة (متميزة) وفي مجموعات جين -نوغي السلالة في هذه

السلالة المعرضة من الإشريكية القولونية. وبدون شك سيكون هناك العديد من العناصر المساهمة في سمية سلالة O157 H7، ذات ١٥ جزر جين تبلغ >15 kb التي ترمز العناصر الفوقية المفترضة (بيرنا وآخرون 2001، Perna *et al.*)، ولكن فحص النفاذية قد يسمح بالبحث عن عوامل مضادات حيوية ذات خواص امتصاص أفضل في هذه المُمرضات.



الشكل (٩،١٠). مزرعة الإشريكية القولونية O157:H7.

### آلية إفراز البروتين في الممرضات السالبة - لغرام وعلاقتها بالمرض

إضافة إلى الناقل - والتصدير المتوسط - بمضخة البروتين للجزيئات الصغيرة، ويشمل المضادات الحيوية أليفة الدهن، فكل من البكتيريا الممرضة السالبة - لغرام والموجبة - لغرام تفرز بروتينات بواسطة آلية بروتين محخصة (انظر لي وتشينويند 2001، Lee and Schneewind، للمراجعة). وإفراز البروتين الغشاء الداخلي هو مشابه في البكتيريا السالبة - لغرام والموجبة - لغرام باستعمال آلية سبيل (طريق) Sec. وللكائنات الموجبة - لغرام يسمح هذا للبروتينات، مثل السموم الخارجية (exotoxins) (انظر الفصل الخامس عشر لمجينات مختلف السموم الخارجية الموجودة في المكورة العنقودية الذهبية المقاومة للمثسيلين (MRSA))، العبور للوسط الخارجي بواسطة اجنيز شبكة الببتيدوغليكان. في الكائنات السالبة - لغرام، المرور عبر الغشاء الخارجي يشمل العديد من أنواع آليات تصدير البروتين المتخصصة، وتعرف بالنوع I-IV أنظمة الإفراز (type I-IV secretion systems)، وكذلك تجمع الأهداب (pili assembly) عبر الغشاء يشارك في ارتباط الإشريكية القولونية مع خلايا المضيف. وهذه معقدات جزيئية عالية (supramolecular complexes) التي يتم تجمعها في الغشية الداخلية والخارجية.

تبدأ مختلف البكتيريا المعوية الممرضة المرض بواسطة التعبير عن الالتصاق وفي بعض الأحيان البروتينات الغزوية على الأغشية الخارجية، التي تتجمع بواسطة أنظمة الإفراز المذكورة أدناه. والممرضات المنتصقة ولكن غير الغزوية مثال الضمة الكوليرية (*Vibrio cholerae*) والإشريكية القولونية المعوية الممرضة (*enteropathogenic E. coli*) (EPEC) والإشريكية القولونية النزفية المعوية (*enterohemorrhagic E. coli* (EHEC)) تصنع اتصالات بروتين - بروتين

(proetin-protein contacts) مع الخلايا الظهارية في الأمعاء الدقيقة وعن ثم تُشغل مسارات التأثير في خلايا المضيف التي تفعل قنوات أيونات الكلوريد لتدفق الكلوريد والماء لتحدث التلازمات الإسهالية (نتارو وكابير Nataro and Kaper, 1998، بريتي وفينلاي Prente and Finlay, 2001). وتستطيع سلالات السالونيلا والشيغيلة الزحارية (*Shigella dysenteriae*) تحريض الامتصاص (القيط) بواسطة الخلايا الظهارية (انظر الفصل الخامس عشر) والمروور الآحق إلى داخل المساحات الخارج الخلية، عبوراً بالحاجز الظهاري. وفي الحمى التيفية (typhoid fever) ينتج ذلك بكتيريا في الدم (تجرثم الدم وانسمام الدم) (bacteremia and septicemia)، في حين أن غزوات الشيغيلة تكون متمركزة في الغشاء المخاطي للقولوني والمستقيمي، مؤدياً إلى استجابات مدمرة والتهاب للأنسجة والزحار المميز (سانسونيتي وآخرون 2001, Sansonetti et al.).

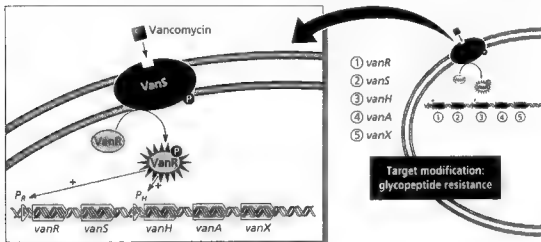
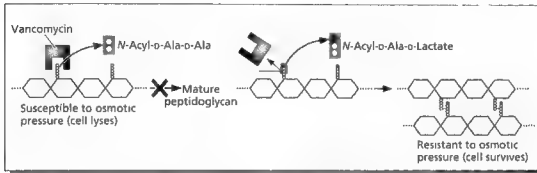
للبروتين المكون - للمسام الحال للدم (the pore-forming hemolysin protein) (HlyA) للإشريكية القولونية الممرضة للجهاز البولي التي تسبب ٨٠٪ من عدوى الجهاز البولي، تكرارات متعددة (multiple repeats) من تسلسلات ربط - الكالسيوم، وتُفَرَس في داخل الأغشية، وهي جزء من عائلة من السموم المتكررة (repeat toxins) (كووت 1992, Coote) التي تغرز بواسطة الماكينة (الآلية) من النوع I. وهناك ثلاثة منتجات جينات أخرى مطلوبة لإفراز HlyA. ويضيف HlyC مجموعات أسيل C<sub>14</sub> أو C<sub>16</sub> إلى اثنين من السلاسل الجانبية ليزين (lysine side chains) في HlyA لزيادة رهاب الماء. ويعد HlyB و HlyD مكونات بروتين للغشاء الداخلي لماكينة الإفراز من النوع I و TolC المذكورة أعلاه في نظام تدفق Acr، البروتين الشريك للغشاء الخارجي الذي يسمح بإفراز HlyA خلال الغشاء الخارجي إلى الوسط الخارجي. ويعد HlyA من نوع (ABC-type ATPase)، وربما له علاقة بالنقل MsbA المذكور أعلاه، ويربط إفراز البروتين النوع I إلى النوع ABC-نواقل المقاومة المتعددة الدواء. و TolC هو حاجز غشاء خارجي ١٢-المجدول (الحلبي) (12-stranded) (كوروناكيز وآخرون 2000, Koronakis et al.) مع نهاية C - ألفا -الحلزونية التي تملأ القناة الداخلية في حالة السكون لمنع تسرب المكونات الجليئية. ويفترض بأن القناة تفتح إلى كامل قطرها 3.4-nm عندما تتعقد مع شركاء الإفراز من النوع I.

وتعرف ماكينة الإفراز من النوع II كذلك بال مسار الإفرازي العام (general secretory pathway) (ليبي وتشنيوود Lee and Schneewind, 2001) وهو مسئول عن تصدير بعض السموم البكتيرية مثل سم الكوليرا، السم المعوي للإشريكية القولونية، وسم شيغا (shiga toxin) للشيغيلة الزحارية، وسم الإشريكية القولونية الشبيهة - بسموم شيغا (shiga-like toxins) (مثال، في السلالات O157:H7)، وجميعها لها تراكيب AB<sub>5</sub> منقوصة (oligomeric)، حيث الوحدة الفرعية A تنشط إنزيمياً عندما يتم أخذها بواسطة خلايا المضيف. والمكونات الخماسية B<sub>5</sub> تتجمع ذاتياً في غشاء المضيف وتستطيع أن تميز الدهون السكرية (glycolipids) المختلفة، جلوبوسيد (globoside Gb3) للسم للإشريكية القولونية السامة للأعما - المشابه - لشيغا (ETEC) وغانغليوسيد (ganglioside GM1) لسم الكوليرا (الضمة). وبعد ذلك تنفرق مكونات A وتنضوي بواسطة خلية المضيف، حيث تنفذ بعض الخطوة الإنزيمية. كما

أن سم شيفغا للشيفيلة والإشريكية القولونية O157:H7 هو N-غليكوسيداز (N-glycosidase) نوعي ينقي فضالة معينة في 23S rRNA وبذلك يعرقل البناء الحيوي للبروتين، في حين أن الوحدة الفرعية A التابعة لـ ETEC وسم الكوليرا من الضمة الكوليرية يؤديان إلى رفع AMP الحلقي وGMP الحلقي (cyclic AMP and cyclic GMP)، تنشط قنوات أيون الكلوريد، والناتج الإسهالات (جرويسمان 2001، Groisman).

ويفرز كذلك الإنزيمات الخارجية بواسطة مسار II، وتشمل بروتيازات (الإنزيمات البروتينية) (proteases)، إيلاستاز (إلستاز) (elastase) (إنزيم مرونة النسيج)، فوسفاتازات (phosphatases)، ويكتيت ليسازات (pectate lysases) (الإنزيمات الحالة للبيكتيت) بواسطة مُمرضات النبات هذه مثل إروينيا كاروتوفورا (*Erwinia carotovora*). وتوجد بقدر ١٢ بروتينات غشاء داخلي في مآكنة الإفراز هذا (روسيل 1998، Russel). ويعرف كذلك الـ ATPase عند الوجه السيتوبلازمي للغشاء الداخلي، تشابرون الجيلي (periplasmic chaperone)، GspS، وبروتين غشاء خارجي آخر، GspD بالسكربتيتين (secretin).

وتتزامن السكربتيتين ناقصاً (oligomerizes) إلى حلقة دوديكاميريك (dodecameric ring) مع قطر داخلي يبلغ 7.6nm (نوين وآخرون 1999، Nouwen *et al.*) الذي يعتقد بأن يكون القناة لمرور البروتين خلال الغشاء الخارجي. أما الماكينة من النوع III فلها أهمية خاصة لدورها المركزي في الفوعة والإمراضية لعداوى اليرسينية (*Yersinia*) والإشريكية القولونية ولغزو السالمونيلا والشيفيلة إلى داخل خلايا المضيف (انظر لي وتشينو 2001، Schneewind، للمراجعة). ولقد تم شرح هذا الموضوع أكثر في الفصل الخامس عشر. ويفترض بأن الإفراز للبروتين من النوع III يمرض بواسطة الاحتكاك الفيزيائي (الطبيعي) بين البكتيريا وخلايا المضيف، على سبيل المثال، بواسطة تدرجات أيونية نوعية (specific ion gradients)، وتفيد بأنها تحقق البروتينات البكتيرية مباشرة إلى داخل سيتوبلازم خلايا الحيوان والإنسان. والتعطيل لأبيض خلايا المضيف الناتج بإمكانه أن يؤدي إلى الدخول البكتيري (إلى الخلايا الظهارية بواسطة السالمونيلا)، إبطال قتل خلايا البلعمة الكبيرة (macrophage) (بواسطة اليرسينية الطاعونية (*Yersinia pestis*) الخارجية الخلوية)، أو تدمير الخلية (الخلايا الظهارية بواسطة EPEC). ومكونات بروتين الغشاء النوع III مشابهة للمكونات في تجميع السياط (flagella) وكذلك تبنى حول دوديكامر السكربتيتين (secretin dodecamer) في الغشاء الخارجي وبروتين الإبرة (الحبك) (needle protein) (SetF) الذي ينمو من السكربتيتين ويدخل غشاء خلية المضيف. والبروتينات التي تم إفرازها، وتشمل ١٤ بروتينات يرسينية خارجية (Yops)، تمر خلال قناة السكربتيتين والإبرة إلى داخل الخلية مباشرة. وتعطي إشارة تمييز المادة لتحديد أي من البروتينات البكتيرية مُدغمة (مُعَلِّمة) للإفراز من النوع III التي لم حل شفرتها (انظر لي وتشينو 2001، Schneewind، 2001). وتقل عدوانية اليرسينية الطاعونية لتسبب الطاعون بشكل مثير عندما يعرقل إفراز النوع III، وهكذا فهذه الماكينة سوف تكون هدف جيد لتقليل الإمراضية في العدوى السالبة - لغرام.



مقاومة المضاد الحيوي بواسطة تعديل الهدف



## مقاومة المضاد الحيوي بواسطة تعديل أو تعديل هدف المضاد الحيوي

### ANTIBIOTIC RESISTANCE BY REPLACEMENT OR MODIFICATION OF THE ANTIBIOTIC TARGET

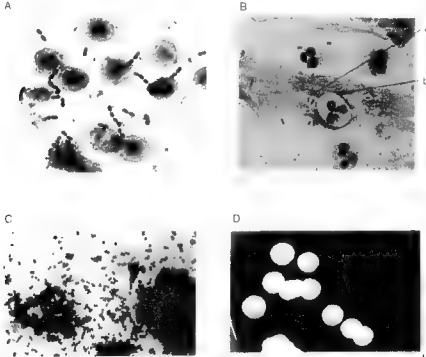
الطرق الثلاث الأخيرة التي تؤدي إلى المقاومة السريعة المهمة في البكتيريا المُعرّضة هي قدرة المُعرضات المقاومة- للدواء على تعديل الدواء المستهدف إلى عدم الحساسية في حين المحافظة على وظيفته الخلوية الرئيسة. الصورة في مقدمة الفصل هي عصف من القسم للشكل (٢.٢) التي يشرح المبادئ لمقاومة المضاد الحيوي التي تنشأ من تعديل أو تعديل الهدف إلى الشكل غير الحساس.

وبالإمكان تحقيق ذلك بواسطة الطفرة عند واحد أو أكثر من المواقع في الجين المستهدف أو بواسطة استيراد الجين التي يخصص إنزيم تعديل جديد الذي يملك حساسية منخفضة واضحة للدواء. تمثل مقاومة البيتا لكتام في سلالات المكورة العقدية الرئوية والمكورة العنقودية الذهبية الموجبة -لغرام هذين الاختلافين في الموضوع. ولكل من الإريثروميسين من عائلة الميكروبيدات وعائلة سترينوجرامين B التجاذب ناقص في الاستجابة مثيلة (methylation) أدينين واحد في 23S rRNA في الوحدة الفرعية الريبوسومية 50S. وأخيراً سوف نلاحظ بأن إعادة برمجة جدار الخلية في مقاومة المكورة المعوية المقاومة -للفانكوميسين الأنماط الظاهرية (VRE)، A,B و C. الرسومات البيانية الدقيقة للمكورة العنقودية الذهبية، المكورة العقدية الرئوية والمكورة المعوية البرازية تظهر في الشكل (١٠.١).

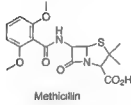
#### مقاومة المسيلين في المكورة العنقودية الذهبية

أدخل المسيلين (الشكل ١٠.٢)، مع ٢.٥ -دايثوكسي بنزويل (2,5-dimethoxybenzoyl) الضخم المستبدل على هيكل ٦- أمينوبنيسيلين (6-aminopenicillin)، في ١٩٥٠م لمعالجة العدوى البكتيرية الموجبة -لغرام التي أصبحت مقاومة للبنيسيلين بواسطة التحلل المائي للبيتا لكتاماز المحرض للمضاد الحيوي. والسلسلة الجانبية الضخمة المستبدلة في وسط إنزيم بنسيلويل -O- لكتاماز أسيل (pencilloyl-O-lactamase acyl) يبطئ انتقائياً خطوة نزع الأسيل الحالة المائية (deacylation hydrolytic step) (انظر الفصل الثامن) ويبطئ العمر الزمني للإنزيم أسيل التساهمي، ويبطئ نشاط البيتا لكتاماز بشكل فعال أثناء تلك الفترة. وكانت هذه الإستراتيجية فعالة لعشر سنوات قبل تَطَوُّر

فاشيات المكورة العنقودية الذهبية المقاومة للمثسليين (MRSA) في أوروبا في ١٩٦١م، وبحلول الثمانينيات كانت MRSA قد انتشرت عالمياً. ولا تنتج MRSA نسخة محسنة من بيتا لكتاماز التي تعد أكثر فعالية عند مضغ المثسليين، ولكن على العكس فقد اكتسبت جين *mecA* الذي يرمز بروتين مرتبط- بالنيسلين جديد (PBP)، يسمى PBP2A (وكذلك PBP2)، في أكثر من ٩٠٪ من العزل السريري المقاوم -للدواء (انظر هيرماتسو وآخرون 2001 *et al.* Hiramatsu). وفي بيئة المستشفى في الولايات المتحدة وقد يصل معدل حدوث MRSA (incidence) إلى ٢٠-٤٠٪، وفي تقرير في اليابان وصل معدل الحدوث إلى حد ٦٠٪ (تشو وآخرون 1996 *Shaw et al.*). وبإمكان MRSA أن تكون سائدة بالأخص في مراكز الحروق، ولكنها توجد أيضاً في دور الرعاية الطويلة الأمد الأخرى. MRSA تواجه مشكلات للمعالجة؛ بسبب أنها مقاومة لجزيئات بيتا لكتام الرئيسة، وتشمل النيسلينات، كيفالوسبورينات، وبنينيمات. وعدم الحساسية العامة - للبيتا لكتام تنسب إلى التجاذب الربط المنخفض لـ PBP2A المرمز بـ *mecA* 76-kDa ترانسفليكوسيلاز / بيتيدترانسبيديلز الثاني الوظيفة. وعلى النقيض، فالـ PBPs الطبيعية عالية-الوزن-الجزيئي، PBP1 خلال ٤، ربما تظل حساسة للأسلة بواسطة بيتا لكتامات في المكورة العنقودية الذهبية الحساسة للمثسليين (MSSA).



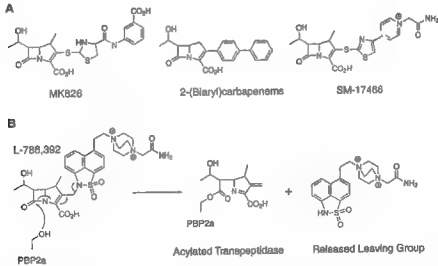
الشكل (١٠.١). المخرصات الموجبة-لغرام التي أصبحت مقاومة للدواء بواسطة تغيير الدواء: (A) المكورة المعوية الوبائية في مزرعة الدم، (B) المكورة العقدية الرئوية المحفوظة (encapsulated)، وتشمل (١) المكوّرات المزودة الموجبة-لغرام المحاطة بمحلفة (2) الكرية البيضاء متعددة الأشكال مقفصة النوى (polymorphonuclear leukocyte) ذات الواة متعددة القصوص، (C) صيغة غرام بلغم مريض مصاب بالتهاب رئوي بالمكورة العنقودية الذهبية، (D) مستعمرات المكورة العنقودية "الذهبية" على طبق إيفار الدم. (من إليوت وآخرون ١٩٩٧م)، بالإذن.



الشكل (١٠٠، ٢). تركيب الميثيسيلين.

الأساس الجزيئي لعدم حساسية PBP2A للاكتامات في حين أنها ما تزال تقوم بوظائف الربط - التبادلي للبتيدوببتيدوغليكان (PG) ليس واضحاً بعد وربما سيتطلب مقارنة تركيب أشعة-إكس مع PBP's الحساس لنفس الكائن. ومصدر جين *mecA* غير معروف كذلك، على الرغم من افتراض الانتقال الأفقي من بعض أنواع المكورات الأخرى (الفصل السابع). ومن المعروف بأن النمط الظاهري لـ MRSA نشأ من انتقال عنصر دنا المتحرك 30-40 kb مع ثلاثي الجينات *mecI-mecC-mecA* عند لب النمط الظاهري المعرض - للمثسليين. ولاحظنا في الفصل الثامن (الشكل ٨، ١٢) قرب موازاة المنطق لدائرة *blaR1-blaI-blaZ*، وفي تلك الحالة لتحريض البيتا لأكتاماز، لدائرة *mecI-mecC-mecA* للنمط الظاهري لـ MRSA (بواسطة الشلال المنشط ذا المكونات -الاثنتين من الجين الحال للبروتين (proteolytic two-component gene activating cascade)). ويعدُّ بروتين MecR1 68-kDa مستشعر/ محول طافي (transducer) عبر الفشاء، مع الحقل الخارجي إكسو PBP (exo PBP) كلاسيكي الذي يمكن أسلته بواسطة المثسليين، وهذا الاحتلال التساهمي يحول (transduced) للحقل الداخلي (endo domain)، ذلك بروتياز زيموجين (zinc protease) الذي يخضع لتحلل ذاتي للبروتين (autoproteolysis). الجزء MecR1 الستيويلازمي المنطلق، الذي هو بروتياز فعّال الآن، بعد ذلك يفلق الكابت MecI بحيث إنه لا يستطيع أن يتزامل مثبوتاً (dimerize) ويرتبط بالـ دنا. يرتاح كبح الانتساخ لجين *mecA* ويصنع بروتين PBP2A، وينقل لسطح الخلية ويوظف غير متلف للربط -التساهمي للبتيدوغليكان في وجود المثسليين الخارج الخلية وغيره من مضادات اللاكتام الحيوية. ومورفولوجي (علم التشكل) ببتيدوغليكان الذي تم تصنيعه بواسطة PBP2A في غياب PBP's الوظيفية الأخرى يتغير بعض الشيء ولكنه كاف بشكل واضح ليسمح بنمو MRSA. وتوجد جينات مساعدة في MRSA، جينات *fem* التي تضيف جسور غليسيل الخماسي (pentaglycyl) العابرة إلى خيوط ببتيدوغليكان قبل الربط - العبري، الذي سوف يساهم في النمط الظاهري (بيرج-بانشي و تششيرسكي 1998، Berger-Bachi and Tschierske، فيليب وآخرون 2000، Filipe *et al.*، تشولار وبرات 2000، Scholar and Pratt). ولقد تم تقدير عدد جزئيات PBP خلية MSSA ونفس الخلية التي تحولت إلى النمط الظاهري لـ MRSA مع DNA *mec* (بوسي ودوجيرتي 2002، Pucci and Dougherty). وخلية MSSA حوالي ١،١٠٠ نسخة من PBP's (PBP1-4) ويبلغ PBP2 حوالي ٤٥٪ من المجموع. وخلية MRSA حوالي ١٠٠ إلى ٢،٠٠٠ PBP's لكل خلية، ويشكل PBP2A ٤٠٪ و PBP2 ٢٥٪ من المجموع.

الفعالية الطبية الكيميائية المكثفة لإنتاج اللاكتامات سوف تستهدف PBP2A وتعكس النمط الظاهري MRSA إلى MSSA قد أدت إلى بعض تراكيب اللاكتام الجديدة ذات الفعالية الواعدة. الأمثلة في سلسلة الكاربابينيم ظهرت في الشكل (١٠٣)، مع بدائل ٢-أريل (2-aryl) أو ٢-كاربولينيل (2-carbolinyl)، إضافة إلى بيتا-ميثيل المستبدل أريل كاربابينيم MK-826 (تشو وآخرون ١٩٩٦، لبي وهيكس Lee and Hecker, 1999). ولـ MK-826 خواص حركيات دواء (pharmacokinetic) التي تقترح جرعة واحدة يومياً. واحد الكاربابينيم تم تصميمه عند ميرك (Merck) ليكون فعالاً ضد MRSA بخاصية السلسلة الجانبية أليفة الدهن الكبيرة. ولوحظ أن البدائل الراهبة للماء الكبيرة هذه كانت مستضدية (antigenic) وسببت فرط الحساسية (hypersensitivity)، على حد قول روزين وآخرون 1999، Rosen *et al.*، إنتر كاربابينيم L-786, 392 الذي عند المهاجمة بواسطة الموقع النشط- سيرين لـ PBP2A، يخضع إلى تجزئة كيميائية وطرد سلسلة الجانبية المستضدة لتقليل من المناعة الوراثية (الشكل ١٠٣ B) (روزين وآخرون 1999، Rosen *et al.*). وبإمكان مثل هذه الجزئيات أن تشبع الحاجة الإكلينيكية الملحة؛ بسبب أن العزل السريع قد اكتسب محددات مقاومة دواء أخرى من الجهود المبذولة لمعالجته بواسطة مختلف المضادات الحيوية. وعلى سبيل المثال، ثلثي العزل السريع لـ MRSA في اليابان له مقاومة دواء إضافية (تشو وآخرون 1996، Chu *et al.*). وبإمكان الانتقاء لمقاومة إضافية أن تحدث بسرعة. وبعد الانتشار الواسع لاستعمال الفلوروكوينولون السبروفلوكساسين لمعالجة عدوى MRSA، ارتفع معدل حدوث المقاومة المجتمعة لـ MRSA والكوينولون من ٥٪ إلى > ٨٥٪ في خلال سنة.



الشكل (١٠٣). (A) الجزئيات ببدائل أريل السلسلة الجانبية، (B) إطلاق السلسلة الجانبية المولدة المناعة للكاربابينيم L-786,392 على هجوم بيتالاكتام بواسطة الموقع - النشط سيرين لـ PBP2A.

### المكورة العقدية الرئوية المقاومة للبيتا لكتام

تعدُّ المكورة العقدية الرئوية عامل مسبب مهم في الالتهاب الرئوي المكتسب من -المجتمع، التهاب السحايا، التهاب الأذن الوسطى، والتهاب الجيوب. ومخلاف سلالات المكورة العقنودية الذهبية وغيرها العديد من الممرضات، المكورة العقدية الرئوية لا تستخدم بيتا لكتامازات كطريق أساسي لمقاومة البنسيلين. ومن ناحية أخرى، ارتفعت مقاومة البنسيلين ٢٤٠- طية لأكثر من خمسة عقود من ١٩٤١-١٩٩١م (انظر تشو وآخرون 1996, Chu *et al.*) بسبب تطوُّر المقاومة في الأهداف PBP نفسها. والفاشية الأولية للمكورة العقدية الرئوية في جنوب إفريقيا في ١٩٧٧م قد انتشرت في معظم أنحاء العالم (تشو وآخرون 1996, Chu *et al.*). ولقد أظهر تحليل بيتيدترانسبيتيدازات / ترانسغلوكوسيلازات في المكورة العقدية الرئوية خمسة PBPs ذات الوزن -الجزئي- العالي التي ساهمت في القتل بواسطة البيتا لكتامات: PBP1A, 1B, 2A, 2B and 2X. و PBP3 بالوزن -الجزئي- المنخفض ليس هدف قتل، في حين أن PBP2B و 2X يعتبران أساسيين. وتشمل المقاومة -منخفضة- المستوى للبنسيلين PBP2X بينما الكيفالوسبورينات تظهر PBP2B ذا الانجذاب المنخفض، وهؤلاء هم مقدمة لتغيرات إضافية في أنماط المقاومة -العالية-. وتوجد طفرات في العزل السريري المقاومة للبيتا لكتام في جميع PBPs الخمس بالتوازن -الجزئي- العالي التي سببت الانجذابات منخفضة للبيتا لكتامازات (ناجاي وآخرون 2002, Nagai *et al.*). وهذا الاكتساب لخمس أنواع من البروتينات الطافرة يبدو أن له احتمالية منخفضة جداً إذا تطلب كل منها طفرة مستقلة. وهناك دليل على أنه على الأقل PBP2B و 2X قد خضعوا لتأشب (recombination) مماثل في أجزاء مختلفة للجينات المشفرة لإيجاد جينات فوسفاسائية (mosaic genes) حيث تطوَّرت المقاومة بواسطة آلية الكاسيت (cassette mechanism) (هاكينبيك 1998, Hakenbeck, سبرات 1994, Spratt). وهذا سوف يمثل خلط جين طبيعي وقد يسرع نشوء بروتينات PBP مقاومة -فوسفاسائية- وقد أخبر عن تركيب أشعة- إكس للشكل الذائب من PBP2X (باريس وآخرون 1996, Pares *et al.*) بعد بتر نهاية N- (N-terminal) لمرسة الغشاء، لتظهر تركيب ثلاثة- حقول، مع حقل بيتيدترانسبيتيداز بين أمينو (amino) وحقل نهاية -كربوكسي (carboxy). ولقد تم تحديد تسلسل جين *pbp2x* من ٣٥ عزل سريري من المكورة العقدية الرئوية المقاومة للبنسيلين (أساهي وآخرون 1999, Asahi *et al.*) وعُين على تركيب أشعة - إكس لحقل بيتيدترانسبيتيداز، مما يعكس تجمعات لتبديلات السلسلة الجانبية في موقع ربط البنسيلين. والطبيعة النمذجية لهذه البروتينات قد تسهل خطة خلط الجينات لتوليد التنوع وتتيح الطريق لنشوء المقاومة. وباختصار، فائزة الأبرز في مقاومة المكورة العقدية الرئوية للبنسيلين هي العدد الكبير من أهداف PBP التي تم تعديلها لعدم الحساسية لإظهار النمط الظاهري (هاكينبيك وآخرون 1999, Hakenbeck *et al.*). يعكس هذا اللدونة (المرونة) (plasticity) الجينية السريعة والرائعة للبكتيريا عندما تواجه خطر الإخماد بواسطة المضاد الحيوي.

## مقاومة الميكروبيات بواسطة أمثلة 23S rRNA

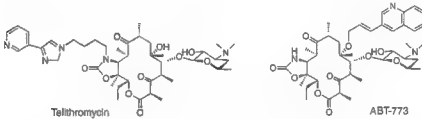
المضادات الحيوية من صنف الميكروبيد، وتشمل إريثروميسين والعوامل ممتدة-المدى أريثروميسين وكلاريثروميسين (azithromycin and clarithromycin)، قد استعملت على نطاق واسع في عداوى الجهاز التنفسي، ولكن مقاومة الإريثروميسين قد أصبحت إشكالية. العزل السريري المكوراتي الرئوي (pneumococcal) هو مقاوم بشكل كبير للإريثروميسين، وفي دراسة واحدة في إفريقيا الجنوبية في ١٩٩١م، كان ٧٠٪ من عزل MRSA مقاوم للإريثروميسين (تشو وآخرون 1996، Chu *et al.*). والطريق الرئيس للمقاومة هو تعديل 23S rRNA في الوحدة الفرعية الريبوسومية 50S لتصبح غير حساسة، في حين أن التدفق، كما لوحظ في الفصل التاسع، يمكن أن يكون معتدلاً كذلك.

تحديد أشعة- إكس الحديد للوحدة الفرعية 50S للريبوسوم المنقوعة بالإريثروميسين (الشكل ٤.٥) صور المضاد الحيوي مرتبط في تجويف بيتيديل ترانسفيراز (ناقلة الببتيد) (peptidyltransferase cavity)، على مقربة من كلا الحلقات A (العقد) A Loops والحلقات P وبجانب A<sub>2058</sub> (انظر الفصلين الرابع والسابع). وهو أحادي المثيلة الأحادية (monomethylation) أو المثيلة الثنائية (dimethylation) لمجموعة أمينو N<sub>6</sub> الحلقية الخارجية (N<sub>6</sub> exocyclic amino group) من A<sub>2058</sub> (الشكل ٧.٦) بواسطة تعديل إنزيم مثيلة الريبوسوم بالإريثروميسين (Erm) الذي ينتج النمط الظاهري Erm وتخفيض الجذب رنا للمضاد الحيوي، بدون التأثير على دور أو وظيفة A<sub>2058</sub> في البناء الهندسي لبيتيديل ترانسفيراز (ناقلة الببتيد). المادة المشاركة هي المانح للميثيل العام البيولوجي إس- أدينوسيل ميثيونين (S-adenosylmethionine)، لكل من إن- المثيلة (N-methylation) الأولى والثانية. وهناك العديد من إن- ميثيل ترانسفيرازات (N-methyltransferases) المعروفة، وتشمل رنا-ن- ميثيل ترانسفيراز RNA-N-methyltransferases ونشوء Erm ميثيل ترانسفيرازات من هذه السلالات هو محتمل. وبالأخص، واحد مثل Erm، ErmE، هو إنزيم تركيب فعال في منتج الإريثروميسين سكاروبولسورا إريثري (*Saccharopolyspora erythraea*)، حيث إنه يوفر مناعة ذاتية لمنتج المضاد الحيوي (الفصل السابع) وربما يكون السلف الحديث لـ Erm في الممرضات المقاومة. وقد تم وصف أكثر من درزيتين من إنزيمات Erm في البكتيريا المقاومة ووصف تركيب أشعة- إكس لـ ErmX (بوسيير وآخرون 1998، Bussiere *et al.*).

التعديل الإنزيمي النوعي- ميثيل A<sub>2058</sub> في 23S RNA لا يقلل الاغتراب لمضادات الميكروبيد الحيوية من صنف الإريثروميسين فقط، ولكن أيضاً لتلك من صنف لينكوميسين/كلنداميسين، فضلاً عن مجموعة ثالثة، عائلة سترتوجرامين B (بريستيناميسين)، وقد وصفت هذه بالنمط الظاهري ميكروبيد- ليمكوساميد-سترتوجرامين B (MLS<sub>B</sub>) لمقاومة الدواء الريبوسومي (انظر الفصل الرابع، الشكل ٤.٥). وبينما إنزيم ErmE في *S. erythraea* ينتج تركيباً (بنوياً)، فعادة النمط الظاهري MLS<sub>B</sub> معرض بواسطة الإريثروميسين في الممرضات المقاومة. ولقد تمت دراسة انتساخ جين *ermC* جيداً في المكورة العنقودية الذهبية (تشو وآخرون 1996، Chu *et al.*) ودلت على أن 141-bp التسلسل القائد (leader sequence) مباشرة ضد تيار شفرة البدء *ermC* يتبنى تركيب ثانوي الذي يفصل موقع ربط

الريوسوم وبذلك يعرقل انتساخ *ermC*. وفي وجود مستويات منخفضة من الإريثروميسين، بواسطة آليات غير واضحة إلى الآن، يفترض بأن التركيب الثانوي للقائد يعاد طيه، ليكشف موقع ربط الريوسوم، ويسمح بانتساخ *ermC*، وينتج ErmC ميثيل ترانسيفيريز، الذي يؤمثل *A2058* (methylates) ويحمي الريوسوم قبل أن تتراكم التراكمات القاتلة من الإريثروميسين في الخلية.

أحد أهداف الكيمياء الطبية في تطوير أنواع الإريثروميسين واسعة - المدى هو التغلب على الأنماط الظاهرية Erm بواسطة إيجاد نسخ شبة اصطناعية أو متبدلة من الميكروبيدات التي لا تزال ترتبط مع نسخ *A2058* المؤثرة من 23S rRNA. التعديلات في الدواء الواسع - المدى كلاريثروميسين تشمل أكسدة ٣- هيدروكسي إلى مجموعة ٣- أوكسو، وتنتج سلسلة الكيتوليد (الشكل ١٠٤)، التي تعدُّ فعالة ضد المكونة العقدية الرئوية المقاومة للإريثروميسين مثلما أنها لا تخضع للنمط الظاهري *MLS<sub>B</sub>* (تشو وآخرون 1996, Chu). التعديلات الإضافية في الجانب- الأيمن لهيكل الماكرولاكتون وربط بدائل الأريل (aryl substituents) تتيح التجاذب كافي لوحداث الريوسوم الفرعية 50S المؤثرة لتجعل الكيتوليدز أدوية جديدة واعدة. ولقد تمت المصادقة على تليثروميسين حديثاً للاستعمال البشري و ABT-773 في مرحلة متقدمة من التقييم السريري.

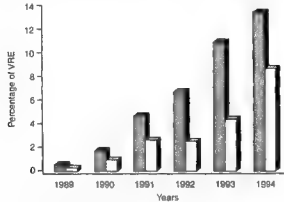


الشكل (١٠٤). تركيب ٣- كيتوليدات (3-ketolides) تليثروميسين و ABT-773، مشتقات الإريثروميسين واسعة-المدى.

### إعادة برمجة VRE لنهايات ببتيدوغليكان

الاستعمال المتزايد للفانكومييسين لمعالجة العدوى التي تسببها MRSA الموجبة -لغرام في الثمانينيات والتسعينيات انتقلت للمكورات المعوية المقاومة - للدواء، المُمرضات الأقل قوة من المكورات العنقودية ولكنها انتهازية في المكان الذي تم إخلائه بواسطة البكتيريا الأخرى وفي المرضى المصابين بأجهزة مناعة ضعيفة. وأنواع المكورة المعوية البرازية (*E.faecalis*) مسؤولة عن حوالي ٩٠ إلى ٩٥ ٪ من العزل السريري المقاوم -للفانكومييسين وتسبب المكورة المعوية فيسيم (*E.faecium*) ٥ ٪ أخرى مع أنواع صغرى مسؤولة عن البقية. تعدُّ المكورات المعوية المسببات الرئيسة لالتهاب شغاف القلب (endocarditis) وهي مُمرضات شائعة في المرضى بالقشاطر المستقرة (indwelling catheters) وتشمل مرضى الديليزة (dialysis) والذين يخضعون لمعالجة كيميائية الذين يعانون من نضوب الخلايا البيضاء -المعرض بالمعالجة الكيميائية في منتصف دورة المعالجة (موراي 2000, Murray). يُظهر الشكل (١٠٥) ارتفاع في معدل حدوث VRE

من أقل من ٠.٥% في ١٩٨٩م إلى ٢٦% في ١٩٩٤م في أجنحة المستشفى ووحدات العناية الفائقة، حيث بإمكان المكورات المعوية أن تلوث وتتضاعف في الجروح الجراحية (انظر بول 2001، Poole، والمراجع فيه). ولقد كان هناك القليل من الاختيارات العلاجية لمعالجة VRE، ولكن المصادقة الحديثة لكل من توليفة سينيرسيد واوكسازوليدونوليد (Synercid combination and the oxazolidinone linezolid) (الفصل الرابع) قد أتت ببدائل الفعالية ضد VRE.



الشكل (١٠،٥). معدل حدوث VRE في وحدات العناية الفائقة (الحظوظ المظلمة) في أوائل التسعينات (بالإذن من هيوز وتينوفر Hughes and Tenover, 1997)

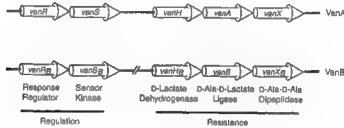
النمط الظاهري الرئيس الأول لـ VRE كان يسمى VanA، تلاءم النوع VanB وثيق الصلة، الذي له في الأساس نفس الآلية الجزيئية ولكن يختلف في الحساسية المستمرة للتيكوبلاين (الجدول ١٠.١) (انظر الشكل ٧.٨ لتركيبة التيكوبلاين). ولقد تم العثور على النمط الظاهري لـ VanC في المكورة المعوية جالينارم (*Enterococcus gallinarum*)، وقد تم وصف هذه التغيرات للأشكال الثلاث اللاحقة (سيتينكايا وآخرون Cetinkaya et al., 2000).

الجدول (١٠،١). الأشكال الظاهرية للمكورات المعوية المقاومة - للجليكوببتيد.

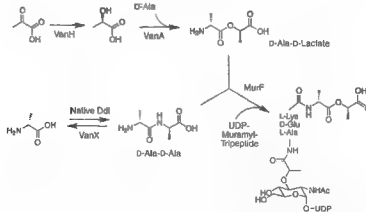
النمط الظاهري	عينة الأوراع	ملغم / فانكوميسين (MIC)	لتر تيكوبلاين	المقاومة القابلة للإستفال	المرخص
VanA	المكورة المعوية فيسيم	64 > 1,000	16-512	نعم	نعم
	المكورة المعوية البرازية				
	المكورة المعوية أقيم				
	المكورة المعوية جالينارم				
VanB	المكورة المعوية فيسيم	4-1,024	0.25-2	نعم	نعم
	المكورة المعوية البرازية				
VanC	المكورة المعوية جالينارم	2 32	0 12-2	لا	البعض
	المكورة المعوية كاسيلانوس				



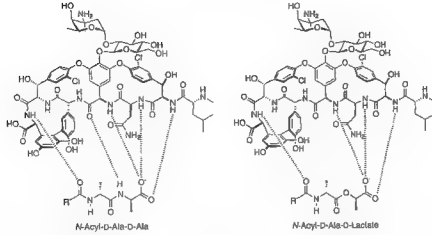
الأنماط الظاهرية VanA و VanB هي متولدة من البلاسميد وغالباً ما توجد الجينات ذات العلاقة على العناصر القابلة للانتقال المستولة المسببة لانتشارها السريع خلال الجمهرة الميكروبية المعوية. وقد وجد أن خمسة جينات منسقة توافيقاً هي ضرورية وكافية لكلتا النمطين الظاهريين VanA و VanB (الشكل ١٠٦)، مع ثلاثة إنزيمات، VanH, VanA, VanX لها دور في إعادة برمجة نهايات الببتيدوغليكان من N-acyl-D-Ala-D-Ala إلى N-acyl-D-Ala-D-Ala (الشكل ١٠٧)، وإثنان من البروتينات، VanS و VanR، تتكون من زوجين من العناصر التنظيمية التي تعتبر استشعار ومنظم استجابة لإعادة البرمجة المحرصة لمقاومة الفانكوميسين. والتحويل من د- ثنائي الببتيد (D,D-dipeptide) إلى د- ديسي ببتيد (D-D-depsipeptide) في الترابط -غير المتقاطع لنهاية ببتيدوغليكان يؤثر أضعافاً على القصاص في الربط الثابت للفانكوميسين (بج وآخرون 1991, Bugg *et al.*) ويعكس ألف- أضعاف في الزيادة في MICs للفانكوميسين المشاهدة في VRE (الشكل ١٠٨). وفقد الانجذاب هو في جزء كبير؛ بسبب فقد رابطة البندرجين الوسطى من كربونيل الببتيد (peptide carbonyl) على الجانب السفلي لجزيء الفانكوميسين على شكل- كاس نحو الأميد N-H للنهاية D-Ala-D-Ala جنباً إلى جنب مع تناثرات الحالة الأساسية بين إلكترونات الزوج الوحيد ديسي ببتيد على إستر أكسجين D-Ala-D-Lac.



الشكل (١٠٦). مجموعة - خمس جينات ضرورية وكافية لتضفي الأنماط الظاهرية VanA و VanB لـ VRE.



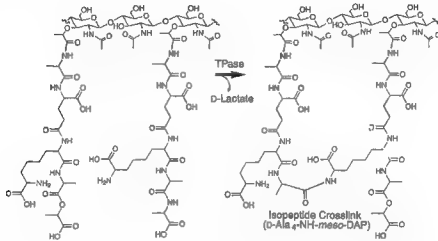
الشكل (١٠٧). إعادة برمجة نهايات PG من D-Ala-D-Ala إلى D-Ala-D-Lactate بواسطة كاسيت الثلاث إنزيمات VanH-VanA-VanX، دور VanX و MurF في تجزئة D-Ala-D-Ala مقابل D-Ala-D-Lac للهدم أو الاستطالة.



الشكل (٨، ١٠). عبارة أحد روابط الهيدروجين بين الفانكوميسين D-Ala-D-lactate يتيح انخفاض ألف-ضعف في الجذاب الربط.

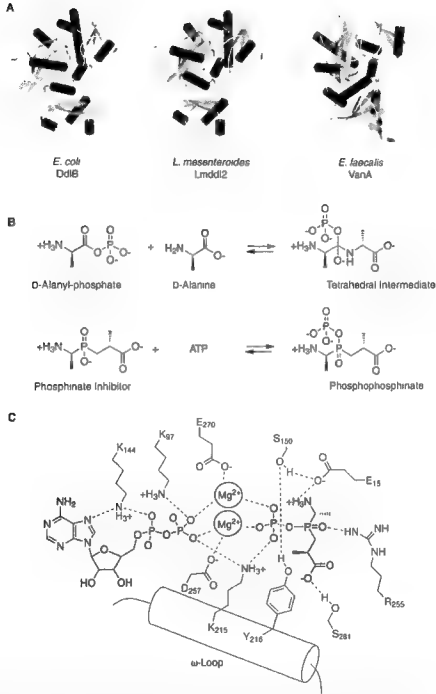
VanH هو إنزيم يروفيت مختزل (pyruvate reductase) (د-لاكتيت نازع للهيدروجين (D-lactate dehydrogenase) في الاتجاه المعاكس) مستعملاً NADH ليختزل  $C_2$ -OH إلى  $C_2$ -OH في اللاكتيت، مع تحكم رئيسي لينتج D-lactate. وتوفر حامض د-هيدروكسي (D-hydroxy acid) هذا بكميات كبيرة يسمح الآن لإنزيم VanA ليعمل كإنزيم رابط (ليغاز) للدييسي ببتييد (D-Ala-D-lactate depeptide ligase) مع ١٥٠ تفضيل - إلى -١ عند pH 6 لصنع د-الآئين-د-لاكت D-Ala-D-Lac على D-Ala-D-Ala (ليسارد وآخرون 1999, Lessard *et al.*). وفي هذه الأثناء ظل يعمل د-الآئين-د-الآئين D-Ala-D-Ala ليغاز الأصلي لينتج نأجه، د-الآئين-د-الآئين D-Ala-D-Ala وبهذا سيكون هناك كلا د-د-ثنائي الببتيد (D-D-dipeptide) و د-د-دييسي ببتييد (D-D-depsipeptide) (الشكل ١٠، ٦) في خلية VRE. وهذه طبيعياً تتنافس مع بعضها بعضاً للاستطالة بواسطة MurF، الإنزيم المضيف د-الآئين-د-الآئين (D-Ala-D-) خماسي الببتيد (Ala-adding enzyme) الذي يحول ميوراميل الببتيد الثلاثي UDP-muramyl tripeptide) إلى UDP-muramyl pentapeptide) لاختتام المرحلة السيتوبلازمية للبناء الحيوي للبتيدوغليكان (الفصل الثالث). ووجود الإنزيم الثالث، فان إكس VanX مطلوب لأنماط VRE الظاهرية رفيعة -المستوى، ويعمل فان إكس VanX بالتحديد كبتيداز د-د (D-D-peptidase) في حين أنه يجب د-الآئين-د-لاكتات D-Ala-D-lactate من التحلل المائي (ليسارد ولوش 1999, Lessard and Walsh). الانتقائية على أساس  $k_{cat} / K_m$  تقرب من  $10^{10}$ ، الفرق المذهل التي يضمن بقاء د-الآئين-د-لاكتات D-Ala-D-lactate فقط في الخلية التي تظهر VanH, VanA, VanX. وبعد ذلك MurF ليس لديه منافسة من د-الآئين-د-الآئين D-Ala-D-Ala عندما يستعمل د-الآئين-د-لاكتات D-Ala-D-lactate ليصنعودي بي-ميوراميل ل-الآئين-د-غلوتامين-ل-ليسين-د-الآئين-د-لاكتات UDP-muramyl-L-Ala-D-lactate. والإنزيمات اللاحقة في مسار الببتيدوغليكان تمسك دييسي ببتييد إلى مرحلة الدهن II.

وهذا التشابه هو ركيعة جيدة للربط - التبادلي (التصالي) للترانسبيتداز (الشكل ١٠.٩)، ويمكن من إنتاج طبقة الببتيدوغليكان المرتبطة - تصاليًا التساهمية والثابتة ميكانيكيًا بحيث إن VRE لا تكون قابلة للتحلل الأوزموزي.



الشكل (١٠، ٩). نهايات PG-D-Ala-D-Lac التي تعبر مواد للربط - التصالي المتواسط بالترانسبيتداز.

لاحظنا في الفصل السابع بأن منتجي مضاد غليكوبيتيد الحيوية يستعملوا إستراتيجية مماثلة لتشغيل VanX, VanH, VanA المناظرات لإعادة برمجة طبقات الببتيدوغليكان التابعة لها وتولد حماية مناعة-ذاتية لإجراءات مضادات الغليكوبيتيد التي تصنعها وتصدرها (الشكل ٧.٩). ومثل هذه الجينات المنتجة قد تكون المصدر لكاسيت الإنزيمات-الثلاث VREs الممرضات الانتهازية. ولقد تم تحديد تراكيب أشعة-إكس لآنزيم ليغاز د-الآئين د-الآئين (D-Ala-D-Ala ligase) من الإشريكية القولونية (فان وآخرون 1994, Fan *et al.*)، ليغاز د-الآئين د-لاكتات (D-Ala-D-lactate ligase) من بكتيريا التربة لوكونوستوك ميزنتيرويليس (*Leuconostoc mesenteroides*) (كوزين وآخرون 2000, Kuzin *et al.*) التي لديها مناعة فطرية للفانكومييسين، وليغاز فان A (VanA ligase) من VRE (روبير وآخرون 2000, Roper *et al.*)، مما أكد على تماثلها في التركيب والتغيرات في الموقع النشط من Tyr<sub>216</sub> إلى Phe<sub>216</sub> إلى His<sub>216</sub> عندما يقدم أحدهم خلال الإنزيمات الثلاث (الشكل ١٠.١٠) ويكتسب إنتقائية مزائدة لتكوين د-الآئين د-الآئين لأكثات D-Ala-D-lactate أكثر من د-الآئين د-الآئين D-Ala-D-Ala. وجميع تراكيب أشعة-إكس الثلاث لها مثبطات فوسفينوفوسفيت (phosphinophosphate) مرتبطة، ومنتجة من الفوسفينيت (phosphinate) الذي يتفاعل مع ATP في الموقع النشط (الشكل ١٠.١٠ B و C). ويعد الفوسفينيت فعال ضد ليغازات د-الآئين د-إكس (D-Ala-D-X ligases) في المختبر، ولكن هذه الجزيئات المشحونة لا تدخل إلى داخل السيتوبلازم البكتيري وهكذا فهي ليست فعالة ضد البكتيريا ككل.



الشكل (١٠، ١٠). (A) تراكيب أشعة-إكس للليغاز د-الآلن D-Ala-D-Ala ligase من الإشريكية القولونية، ليغاز د-الآلن د- VanA-D-Ala-D-Lac ligase من ليوكوبستوك مزيتوديز و ليغاز فان أ -د-الآلن د-لاك DdlB من الميكروبيوتيا. (B) فسفرة مشابهة بالتركيب فوسفينيت (dialkylphosphinate) في الموقع النشط للليغاز ينتج حالة - إنقزال مشابهة التي تسلك مسلك الليط البطني للربط-الحكم. (C) الرسم المعماري للموقع - النشط للإشريكية القولونية DdlB مع رابطة ADP فوسفوفوسفينيت. (بالإذن من شاي (Shi) ووالش (Walsh) ١٩٩٥).

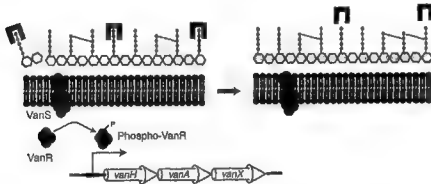
وامتداداً للفرضية بأن أنماط VRE الظاهرية تعكس إعادة البرمجة الجزيئية للغازات د-الآئين د-الآئين وامتداداً للفرضية بأن أنماط VRE الظاهرية تعكس إعادة البرمجة الجزيئية للغازات د-الآئين د-الآئين Navarro and Van c ligase) من المكورة المعوية جالينارم (نافارو و كورفالين (Courvalin, 1994). وهذا الإنزيم هو ليناز د-الآئين د-سيرين D-Ala-D-Ser ligase، ويظهر حوالي 350- ضعف إنتقائية لـ D-Ser في مكان D-Ala في الموقع النشط لليناز (بارك وآخرون (Park *et al.*, 1997). كما أن حمل D-Ala-D-Ser للأمام بواسطة MurF ويليه البناء الحيوي للبيتيدوغليكان يثمر عنه نهاية بيتيدوغليكان لها D-Ala-D-Ser حيث تتدخل السلسلة الجانبية لـ CH<sub>2</sub>OH لـ D-Ser مع التمييز بواسطة الفانكوميسين مقارنة مع تطابق سطحها المكمل للمجموعة الأصغر CH<sub>3</sub> للنهاية D-Ala. وانخفاض الانجذاب هو أكثر اعتدالاً، حوالي 10- أضعاف.

مشغل VanB له مجموعة خمس-جينات مقارنة VanS<sub>B</sub>, VanR<sub>B</sub>, VanH, VanB, and VanX<sub>B</sub> - والمنطق الجزيئي للإنزيمات إعادة برمجة البيتيدوغليكان مشابهة لتلك التي في المشغل VanA. ما الذي اختلف هو أن الملاحظة بأنه بينما كل من الفانكوميسين والتيكوبلائين يمرضان انتساخ الجينات الخمس للمشغل VanA فإنه فقط الفانكوميسين وليس التيكوبلائين الذي يُعرض مشغل VanB (الجدول ١٠.١)، مما يفسر لماذا تبقى سلالات VanB حساسة للتيكوبلائين (آرثر وكورفالين, 1993). وهذه النتائج توحي بأن مضاد (مضادات) غليكوبيتيد الحيوية هي المُحرض لـ VanA أو VanB (فانكوميسين فقط) وبالفعل، فالطفرات في بروتين مستشعر VanS<sub>B</sub> تحولها إلى تستجيب للتيكوبلائين الخارج الخلية. ويبدو أن منطق المكونات الإثنى Vans-VanR نموذجي لهذه الأنظمة الإستشعارية/والحولة البكتيرية (والش وآخرون B Walsh *et al.*, 1996). يستشعر الفانكوميسين في البيئة الخارجية الدقيقة بواسطة حقل إكسو لـ VanS، إما مباشرة أو غير مباشرة بواسطة بعض أجزاء من البيتيدوغليكان كما في نظام استشعار AmpC (انظر الفصل الثامن). وهذه الإشارة تحول عبر الغشاء نحو حقل هيستدين كيناز (histidine kinase) السيترولازمي لـ VanS، والذي يفعل ذاتياً ليفسر شريكه الوحدة الفرعية ثنائي الجزء في ترانس (trans) (الشكل ١٠.١).

وبإمكان الشكل فوسفو-هيس (phospho-His form) من VanS أن ينقل مجموعة PO<sub>3</sub>- إلى البروتين المنظم للاستجابة النوعية VanR، وعنصر الانتساخ ثنائي الحقل، إلى السلسلة الجانبية Asp في حقل نهاية-N. والشكل فوسفو-Asp (phospho-Asp form) من حقل نهاية-N من VanR يوصل هذه الشحنة في حالة الفسفرة إلى حقل ربط نهاية-C لـ دنا ويحدث التفعيل الانتساخي لـ VanH, VanA و Vanx لتبدأ إعادة البرمجة. وهناك بعض الأدلة على أنه في حالة التخلف في الأنماط الظاهرية VanA، يعمل VanS في طريقة شبكة ككيناز VanR، بينما VanS<sub>B</sub> ربما يعمل في حالة الاستراحة غالباً كفوسفاتاز يُفسفر-Asp VanR<sub>B</sub>.

وبالنظر بأن الأنماط الظاهرية VanA و VanB من VRE تجمع خمسة جينات لتجعل إعادة برمجة PG أن تغير رابطة هيدروجين واحدة على الفانكوميسين، هناك عدة طرق لعكس النمط الظاهري. إحدى الطرق هي استعمال VanX, VanS, VanR, VanH, VanA كأهداف للجزيئات التي تبطل فعاليتها، ولقد تم وصف بعض مثبطات VanX (أراوز وآخرون 2000, Araoz et al.).

ومثل هذا المثبط في توليفة مع الفانكوميسين سوف يحاكي استراتيجية أوجمنتين (Augmentin) لمضادات بيتالاكتام الحيوية (انظر الفصل الثامن). الإستراتيجية الثانية قد كانت للفحص (للمسح) ضد VRE مع الغليكوبيبتيدات التي تحتفظ بنشاط المضاد الحيوي. وأدى ذلك إلى نسخ شبه اصطناعية من الغليكوبيبتيدات السكرية الدهنية (ليبوليكوبيبتيدات) مثل LY333328 (انظر الفصل الخامس عشر، الشكل ١٥,٦) التي تعتبر ٨٠-١٠٠ أضعاف أكثر فعالية من الغليكوبيبتيدات الأيوية التي تفتقر لسلسلة الدهن، مستعبدًا اثنين من ثلاثة من سجلات النشاط (الفعالية) التي فقدت ضد النمط الظاهري VRE. وهذا المركب هو في التطوير السريري تحت اسم أورثافانسين (ortavancin). وبإمكان شطر كلوروفينيل الراهب للماء (chlorobiphenyl) أن يتحرك حول سلسلة ثنائي السكريد (جي وآخرون 1999, Ge et al.) ويستعيد نشاط VRE، مما يوحي بأن الدهن هو مرساة غشاء ليعيد تركيز غليكوبيبتيد الدهني ويوفر تركيز أعلى وفعال عند السطح الخارجي للغشاء حيث تتم الربطات-التصالية للبيبتيدوغليكان، ولقد افترض بأن مثل هذه المشتقات الراهبة للماء من الغليكوبيبتيدات تثبط انتقائياً عملية (إنزيمات ناقلة الغليكوزيل) ترانسغليكوسيلازات (transglycosylases) في VRE، لتعيد توجيه هذه الأدوية المرشحة من تثبيط ترانسبيبتيداز نحو أهداف جديدة (جي وآخرون 1999, Ge et al.، سن وآخرون 2001, Sun et al.).



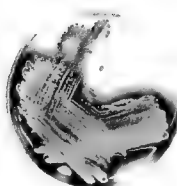
الشكل (١٠,١١). الفرضية لـ VanS-VanR مستشعر كيناز/منظم الإستجابة لتفعيل جينات VanH, vanA, and vanX لإعادة برمجة البناء الحيوي للبيبتيدوغليكان.

## البناء الحيوي للمضاد الحيوي ANTIBIOTIC BIOSYNTHESIS

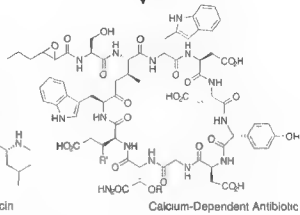
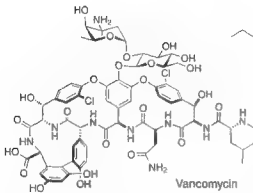
في هذا الباب من الكتاب درسنا الإستراتيجيات للبناء الحيوي للأصناف الرئيسة من المضادات الحيوية. وتم شرح المنطق والماكينة للمضادات العطرية المشتقة - من البوليكيتيد والنموجية في الفصل الثاني عشر. وفحص الفصل الثالث عشر إستراتيجية تجميع - الخطوط الموازية لأصناف مضادات البيتيد غير الريبوسومية وتشمل بينيم (penem)، أوكساينيم (oxapenem) وكارباينيم. ويتناول الفصل الرابع عشر سبل البناء الحيوي للأصناف الأخرى من المضادات الحيوية، وتشمل أمينوكومارينات (aminocoumarins) وأمينوغليكوسيدات. البناء الحيوي لتربين (terpene) ومنتجات ألكالويد (alkaloid) الطبيعية، البعض منها له فعالية مضاد حيوي لم تتم مناقشتها. يوجه القراء إلى المجموعة متعددة الأجزاء (كيمياء المنتجات الطبيعية الشاملة) (*Comprehensive Natural Products Chemistry*) (بارتون وآخرون 1999، Barton *et al.*) لهذه المواضيع وسبق أوسع من الجزئيات من الفصل الثاني عشر إلى الرابع عشر. وقدّمنا هذا الباب مع الفصل الحادي عشر، والذي يلخص ما يعرف حول الجينات والبروتينات التي تحكم بتوقيت صنع المضادات الحيوية في الكائنات المنتجة. وهذا متمم للفصل السابع، حيث تم فحص آليات الدفاع لمنتجي المضادات الحيوية عند مستوى البروتين. والبكتيريا من رتبة الفطار الشعية (*Actinomycetales*) وبالتحديد عائلة التسلسلات (*Streptomycetes*) ضمن تلك الرتبة، هي مولدات غزيرة للأسلحة الكيميائية ضد جيرانها، وتنتج ما يقدر بنحو ١٢,٠٠٠ مضاد حيوي طبيعي معروف (تشامبنيس 2000، Champness). ومسارات الإشارة الجزيئية التي قد بدئ بفك شفرتها في التسلسلات، وبالأخص في التسلسلة كوليكولر (*Streptomyces coelicolor*)، يحتل بأن تكون منافع عامة لتحليل المنطق لمنتجي المضاد الحيوي.



*A. orientalis*



*S. coelicolor*



أميكولاتوبسيس أورينتالز (*Amycolatopsis orientalis*) منتج الفانكوميسين، والمتسلسلة كوليكولر، منتجة المضاد الحيوي المعتمد-على الكالسيوم.



## تنظيم البناء الحيوي للمضاد الحيوي في الكائنات المنتجة

### REGULATION OF ANTIBIOTIC BIOSYNTHESIS IN PRODUCER ORGANISMS

#### تنظيم إنتاج المضاد الحيوي في المتسلسلات

من مضادات السيكر (circa) الـ ١٢,٠٠٠ الحيوية المعروفة، قد قدر أن بعض ١٦٠ ما زالوا أو قد كانوا في الاستعمال السريري للإنسان. المتسلسلات، البكتيريا الموجية- لغرام الخيطية، مسئولة عن إنتاج حوالي ٥٠٪ من هذه المضادات الحيوية الهامة تجارياً (تشامبنيس 2000, Champness).

الجدول (١١,١) يلخص ٢٦ من الأمثلة، تشمل كل من بوليكتيد (عديد الكيتيد) الدورية الكبيرة (macrocyclic) والعطرية، الببتيدات غير الريبوسومية، بيتا لاكمز، تراكيب بوليكتيد - بيتيد الهجين، كيومارينات وبوليبيرولات (polypyrroles)، التي تختلف في التراكيب وطرق العمل المضادة البكتيرية. عديد من المركبات في هذا الجدول شرحت بالتفصيل في الفصول الأخرى من هذا الكتاب. ومضادات المتسلسلات والشعيات الحيوية هذه تشترك في سمة عامة بأن بناءهم الحيوي غالباً ما يكون منسقاً بشكل مؤقت مع التغييرات الأخرى في مورفولوجيا (أشكال) المستعمرة، وبالتحديد التغييرات التطورية التي تشمل الفطور الفصينية الهوائية (aerial mycelia) وتكوين الأبواغ (spore formation) (انظر بب وآخرون 2000, Bibb *et al.*، والمراجع فيه، تشاكرابرتي وبب Chakraburty and Bibb, 1997). الظروف المتنوعة، وتشمل الغذاء المحدود، يستطيع أن يبدأ كل من برامج التطورية وإنتاج المضاد الحيوي، ولقد أصبح واضحاً بوجود شبكات من الإشارات التنظيمية والنظم التي تتقاطع وكذلك تحري بالتوازي. إن فهم ماكينة (آلات) تنظيم جين المضاد الحيوي سوف تزيد فرص التعزيز العقلاني والتحكم بمستويات المضاد الحيوي وتساعد في الحصول على سبل بناء حيوي مجتمعة لتوظف في جسم الإنسان.

الجدول (١١، ١). مضادات الشعيات الحيوية المتطاة.

المضاد الحيوي	المنتج	الصنف <sup>١</sup>	الهدف <sup>٢</sup>	الاستعمال
أفيرمكتين (Avermectin)	السلسلة أفيرمكتيل	ماكروليد (PK)	قنوات أيون الكلوريد	مضاد للطفيليات
بليوميسين (Bleomycin)	"السلسلة فيريكتيليس"	غليكوبيتيد (بيتيد سكري)	كسر خيط دنا	مضاد للورم
كلورامفينيكول	السلسلة فيزولي	إن-دايكلورأسيل فينيل بروبانويد	ربط الريبوسوم	مضاد بكتيري
كلوروتراسيكلين	السلسلة أويولاسين	تراسيكلين (PK)	ربط الريبوسوم	مضاد بكتيري
حامض الكلافولينيك	السلسلة	بيتا لكتام	مثبط للبيتا لكتاماز	يتحد مع بيتا لكتام مضاد بكتيري
دابتومي سين (Daptomycin)	السلسلة روزيبوروس	ليوبتييد (بيتيد دهني)	؟ حامض ليوبتيوكيك	مضاد بكتيري
دونوروبيسين (دونوميسين) (Daunorubicin) (daunomycin)	السلسلة يوسيتيكس	أنتراسيكلين (Anthracycline)(PK)	إلحام دنا	مضاد للورم
إريثروميسين	سكاروميسين إريثري	ماكروليد (PK)	ربط الريبوسوم	مضاد بكتيري
FK506 تاكلوليمس (tacrolimus)	السلسلة	ماكروليد (PK)	يرتبط مع بروتين FK	مثبط للمناعة
فوسفومي سين	أنواع السلسلة	حامض الفوسفونيك	بيتيدو غليكاز	مضاد بكتيري
جنتاميسين	أنواع ميكروموتوسيد	امينو غليكوسيد	ربط الريبوسوم	مضاد بكتيري
كاناميسين	السلسلة كاناميتيكس	امينو غليكوسيد	ربط الريبوسوم	مضاد بكتيري
ميثوميسين C	السلسلة كامبيتوس، للسلسلة فيريكتيولاس	بزوكونون	ربط - تصاليي ل دنا	مضاد للورم
نوكارد سين (Nocardicin)	النوكارديا بينفورميس	بيتا لكتام	بيتيدو غليكاز	مضاد بكتيري
نوسيهبتيد (Nosiheptide)	السلسلة أكتوسيس	ثيوبتييد	رباط الريبوسوم	محفز النمو
نوفوبويسين	السلسلة نيفيس	كيومازين غليكوسيد	ناد غيراز (الوحدة الفرعية - $\beta$ )	مضاد بكتيري
أولياندوميسين	السلسلة أنثيويتيكس	ماكروليد (PK)	ربط الريبوسوم	مضاد بكتيري
أوكتيتراسيكلين	السلسلة ريغوس	تراسيكلين (PK)	ربط الريبوسوم	مضاد بكتيري
بريستاميسين	"السلسلة بريستينسيراليز"	ماكرولاكون بيتيدي + هليد للماكرولاكون غير مشبع (PK)	ربط الريبوسوم	مضاد بكتيري
ريفاميسين	أميكولاتوميسين المتوسطة (Amycolatopsis) (mediterranei)	أساميسين (PK)	RNA بوليميراز	مضاد بكتيري (للدرن والجذام)
تيكونولانين	أكتينوبلايس تيكوميسيتيكس	غليكوبيتيد (بيتيد سكري)	بيتيدو غليكاز	مضاد بكتيري

تابع الجدول (١١،٩).

المضاد الحيوي	المنتج	الصفة <sup>١</sup>	الهدف <sup>٢</sup>	الاستعمال
تتراسيكلين	السلسلة أوريوفانسيس	تتراسيكلين (PK)	ربط الريبوسوم	مضاد بكتيري
ثيناميسين	"السلسلة كاتليا"	يتالانام	الستيدوغليكان	مضاد بكتيري
نيلوسين	السلسلة فراديي ( <i>S. fradiae</i> )	ماكروليد (PK)	ربط الريبوسوم	محفز النمو
فانكوميسين	أميكولاتوميسين أوريتانيز	غليكوبيتيد	الببتيدوغليكان	مضاد بكتيري
فرجينياميسين (Virginiamycin)	السلسلة فرجينتي ( <i>S. virginiae</i> )	لاكون حلقي كبير (PK) + ببتيد لاكون حلقي كبير	ربط الريبوسوم	محفز النمو

(<sup>١</sup>) PK: بوليكتينيد      (<sup>٢</sup>) ربط الريبوسوم ببند بناء البروتين      مقتبس بالإذن من كيسير وآخرون 2000. Kiser et al.

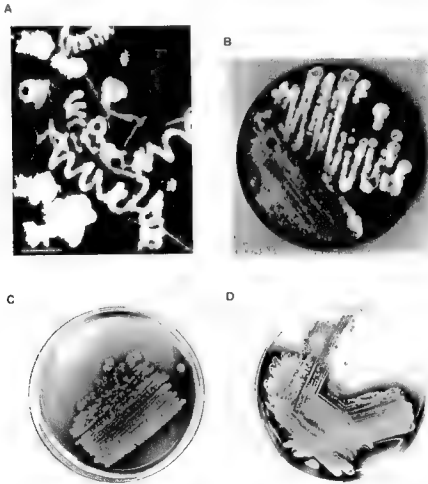
الشكل (١١،١) يظهر الصور المجهرية لمزارع المتسلسلة أفيرميتيليز (*Streptomyces avermitilis*) منتجي أفيرميكتين (avermectin)، المتسلسلة كلافلوجريس (*Streptomyces clavuligerus*)، منتج كلافلونيت، أميكولاتونيز أورييتانيز (*Amiclatosis orientalis*) منتج فانكوميسين، المتسلسلة كوليكولور، الكائن المضيف للعديد من الطرق المأشوية (recombinant) نحو البناء الحيوي المجتمع، شرح في الفصلين الثاني عشر والسادس عشر.

لقد كانت المتسلسلات المنتجة للعديد من مختلف المضادات الحيوية ذات قيمة في شرح بعض النطق الجزئي الذي يتحكم في التوقيت وكميات إنتاج المضاد الحيوي، مستعملاً الحواجز الوراثة للتأثير على إنتاج المضاد الحيوي كطريق مشمر لتحديد هوية ووظيفة الجين. في الوقت الحالي يوجد بعض الفهم لطبقتين من الشبكات المنظمة والأولى تستعمل عنصرين مستشعر كيناز/وماكينه منظم الاستجابة للتنظيم العالمي والثاني يستعمل جزيئات نصاب/الاستشعار الذي ينتقل بين الخلايا ولقد سميت "هورمونات" المتسلسلات لمسار- نوعي للتنظيم (تاكوانو وآخرون 2000. Yamada and Nihara, 1999).

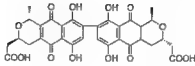
التسلسل لجين *S. coelicolor* قد تم تحديده حديثاً (بينتلي وآخرون 2002. Bentley et al.) ووجد أن يحتوي على ٧,٨٢٥ جينات مفترضة، تقريباً ضعف محتوى جين الإشريكية القولونية (٤,٢٨٩) العصبية الرقيقة (٤,٠٩٩). تناسباً مع المجين الكبير والإظهار الانتقائي للجين في تربة بيئات جلدية يوجد عدد هائل من الجينات المنظمة، ٩٦٥ جينات تمثل أكثر من ٢٥٪ من الجينات. وتشمل هذه ٦٥ عناصر ه التي تتحكم في نوعية تمييز المحرض للرب الوحدات الفرعية لونا بوليميراز (RNA polymerase) ليمسح بالانتساخ الانتقائي لمجموعات من الجينات وعلى الأقل ٥٣ زوج من ثنائي المكونات من مستشعر كيناز عبر الغشاء / منظمات الاستجابة لانتساخ الجين استجابة للإشارات الخارجية. ويفترض بأن عشرين من مجموعات الجينات التي تشفر الإنزيمات التي تعمل في المسارات الأيضية الثانوية، وتشمل

بعض المصائد الحيوية من الشكل (١١٢). والعديد من مجموعات جينات هذه المنتجات الطبيعية الثانوية توجد في الخارج على حافة كروموسوم *cachalot* الخيطي ويعتقد بأنها أصيقت للكروموسوم اللب المشفر الوظيفة (بينتلي وآخرون 2002). *Bentley et al.* المواضيع المحيطية لكروموسومات المتسلسلة الأخرى قد تكون مواقع لجينات بناء حيوي للمضادات الحيوية الإضافية.

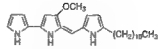
المثال الثاني للكثيرا التي تستعمل إشارات النصا للساء الحيوي لجين المضاد الحيوي هي مُمرض النبات إروينيا كاروتوفورا (*Erwinia carotovora*)، التي تنظم تجميع الكاربابينيم، كما سنلاحظ في نهاية الفصل (سويغت وآخرون 1996). *Swift et al.*



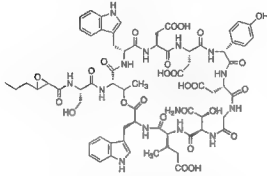
الشكل (١١،٩) (A) المتسلسلة ألفرميتيليس (بالإذن من ميادوه وآخرون 1997، *Miyadoh et al.*)، (B) المتسلسلة كلافوليهريس (بالإذن من [www.cbs.umin.edu/nsirc](http://www.cbs.umin.edu/nsirc)، ١٩٩٧)، (C) كولوفويسيس أوريتاليز، (D) المتسلسلة كوليكولر.



Actinorhodin



Undecylprodigiosin



Calcium-Dependent Antibiotic



Methylerythrin

الشكل (١٩، ٢). تراكيب الأيضات الثانوية المنتجة بواسطة التسلسلة كوليكلور.

المنظمين العالمين لإنتاج المضاد الحيوي في التسلسلة كوليكلور (*S.coelicolor*):

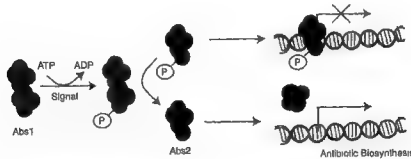
المنظمين ذوي-الشقين (two-component regulators)

من تسلسل مجن التسلسلة كوليكلور، يمكن للمرء تحديد مجموعات الجينات للمضادات الحيوية الأربع المعروفة من هذه البكتيريا: أكتينورودين (actinorhodin) (بوليكيتيد)، أنديسيلبروديجيوسين (undecylprodigiosin) (بوليكيتيد-بوليبيرول مهجن) (hybrid polyketide-polypyrrole)، المضاد الحيوي -المعتمد على الكالسيوم (CDA) (هبتيد غير الريبوسومي)، وميثيلينيميسين (methylenemycin) (بوليكيتيد) (الشكل ١١.٢). وقد كشفت الفحوصات الوراثية عن طفرات عند الموضع *abs* الذي يعاني من نقص الإنتاج لجميع المضادات الحيوية الأربعة، كما لو أن الشبكة العالمية التنظيمية كانت مسدودة. وبين رسم الخرائط وتحليل التسلسل اثنين من بروتينات *Abs*، *Abs1* و *Abs2*، التي هي قريبة من مجموعة CDA جين البناء الحيوي (انظر بيب 1996، Bibb). وللزج *Abs1-Abs2* جميع سمات التسلسل المتنبأ لنظام الشقين-الاثنين التنظيمي المعياري مع *Abs1* هيستيدين كيناز عبر الغشاء و *Abs2* المحتوي على-أسبارتيت منظم الاستجابة (aspartate-containing response regulator) الذي يحدث له فسفرة بواسطة الشكل فوسفو-هيس (phospho-His form) من *Abs1*. والشكل فوسفو- *Asp* من *Abs2* هو منظم سالب للجينات المستهدفة، التي تشمل مسار المضاد الحيوي -عناصر انتساخ نوعية التي سوف تشرح أدناه. وهكذا في غياب بعض الإشارات على العكس من ذلك الوضع المتخلف (الافتراضي) هو أن *Abs2* يتفسر ويحتفظ بانتساخ الجينات المستهدفة

ليتحكم بجينات، كتلة البناء الحيوي للمضاد الحيوي المفلقة (الشكل ١١.٢). كما أن هوية الإشارة ليست معروفة إلى الآن، وربما تكون ربيطة (ligand) للحقل الخارج الخلية أو عبر الغشاء لـ Abs1 الذي يحول هذا النظام الثنائي المكونات من الإيقاف إلى التشغيل ويريح كبت الجين. والتكهنتات المعقولة التي تعتمد على منطق النظام الثنائي- المركبات الآخر، هو أن الاستجابة للإشارة غير المعروفة هو أن تبديل Abs1 من وضع كيناز إلى وضع فوسفاتاز، معرضاً التحلل المائي لـ P-Asp-Abs2 إلى الشكل ديفوسفو (منزوع الفوسفو) (dephospho form) (الشكل ١١.٣)، مع فقد التجاذب الربط لاستهداف مناطق حفازات الجين، وإطلاق dephospho-Abs2 الذي سوف يسمح بالشروع في انتساخ الجين المستهدف.

ربما لا يكون زوج Abs1-Abs2 المنظم الوحيد عالمياً الذي يتحكم بتوقيت إظهار الجين البنائي الحيوي للمضاد الحيوي في هذه وفي التسلسلات الأخرى. وعلى سبيل المثال، يوجد Abs2 مشابه (مناظر)، RedZ، في تجمع أنديسيلبروديجيوسين (undecylprodigiosin).

وكذلك، زيادة إظهار لزوج ثنائي المكونات آخر، AfsQ1-AfsQ2، سيكون بديلاً. كما أن طرد (خروج) Abs سيؤدي إلى الإنتاج المبكر لجميع مضادات المتسلسلة كوليكولر الحيوية في غضون ساعات إلى أيام وبكميات تصل إلى ٦٠- ضعف أعلى من الطبيعي، معتمدة على ظروف التزريع. وهناك تكهنتات بأن التحكم بتوقيت إنتاج المضاد الحيوي بواسطة الحاصرة الفطرية الفصصية (mycelial mat) لربما يكون من المهم عدم التدخل في التنفيذ الناجح لبرنامج التطوير، مثال، إنتاج الأبواغ بواسطة الخيوط الفطرية الهوائية (aerial hyphae). تأخير إنتاج البيتيد الدهني CDA المكون-للمصام، على سبيل المثال، قد يكون مهماً لتجنب الانسمام الذاتي. والنظام الثنائي- الشقن الثالث، جينات *cutS* و *cutR*، يعمل كذلك في التنظيم السالب لإنتاج المضاد الحيوي (تشانج وآخرون، Chang and Roth, 1996)، مما يقترح وجود عدة نقاط تقاطع للاستشعار البيئي وإظهار جينات البناء الحيوي للمضاد. وتوفر تسلسل مجين المتسلسلة كوليكولر سوف يسمح الآن بالتحليل المنهجي لدور كل من الـ ٥٣ نظام الثنائي -المكونات في إنتاج المضاد الحيوي.

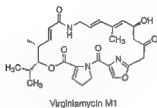


الشكل (١١.٣). المنطق التنظيمي لثاني المكونات للتحكم بانتساخ جين المضاد الحيوي بواسطة Abs1 و Abs2 في التسلسلات.

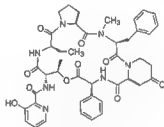
## مسار المضاد الحيوي - التنظيم النوعي في المسلسلات

### بواسطة بيوتانوليدات (butaneolides)

التحليل الأكثر شمولاً لتنظيم مسار المضاد الحيوي المحدد، خطوة واحدة إلى الأسفل من التنظيم العالمي من Abs من المحتمل في التسلسلة فيرجيني في إنتاج المضادين الحيويين فيرجينياميسين (virginiamycin M1) وفيرجينياميسين S1 (virginiamycin S1) (الشكل ١١.٤). ولقد تم عزل فيرجينياميسينات مرات متعددة كما أن فيرجينياميسين M1 قد كانت معروفة بـبريستناميسين IIA (pristinamycin IIA) وستربتوجرامين A (streptogramin A). وجزء M1 هو ماكرولاكتون الذي يعدّ هجين للبوليكيتيد مع شطر أوكسازوليل-زوليل المشتق من ثنائي الببتيد. المكون S1 هو ببتيد سداسي حلقي مع لاكتون أو رابطة ديسيببتيد بين Thr<sub>1</sub> و PheGly<sub>6</sub>. و Thr<sub>1</sub> له أريل - إن - كاب (aryl-N-cap) مثالياً مع لإستراتيجيات بدء السلسلة في مضادات الببتيد الحيوية غير الريبوسومية. ولقد تم توضيح مجموعة الجينات لزوج بريستناميسين المشابه الذي يشكل التوليفة المضادة البكتيرية سينيرسيد (انظر الفصل الرابع) (بودزدوجان و ليسليرك 1999، Bozdogan and Leclercq، سلطاني وآخرون 2001، Sultani et al.). المنطق الإنزيمي لتكوّن (البناء) الحيوي لمثل هذا الببتيد وخليط مضادات بوليكتيد/ببتيد الحيوية تم فحصه في الفصل الثالث عشر.



Virginiamycin M1



Virginiamycin S1

الشكل (١١،٤). تراكيب مضادات فيرجينيا ميسين الحيوية.

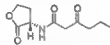
### جزئيات الإشارة بيوتانوليد (Butaneolide)

إن التحكم في إنتاج فيرجينياميسينات في التسلسلة فيرجيني (*S. virginiae*) مضادات النيكولوسيد الحيوية شودوميسين ومينيميسين (Showdomycin and minimycin) في التسلسلة لافينديولي (*Streptomyces lavendulae*)، المضادات الحيوية الأربعة من التسلسلة كوليكولر (انظر "إنتاج المضاد الحيوي في التسلسلات" أعلاه)، دونوروبسين (daunorubicin) في التسلسلة بيوسيتس (*S. peucetius*) وغيرها العديد من مضادات التسلسلة المشكوك بها من الجدول (١١.١) متواسطة بواسطة تفاعل بروتينات انتساخ كابتة معينة مع روابط صغيرة نافذة للخلية، البيوتانوليدات. لاحقاً في هذا الفصل وفي أماكن أخرى من هذا الكتاب (مثل الفصل الخامس عشر) نلاحظ بأن البكتيريا السالبة-لغرام تستعمل إن- أسيل هوموسيرين لاكتونز (*N*-acyl-HSLs) (*N*-acylthomoserine lactones) كجزئيات تأثير

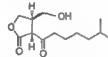
نافذة- للخلية التي تعكس تراكيزها كثافة الخلية البكتيرية وذلك تعمل كمستشعرات النصاب. والجزيئات التي يرجح أن تكون بمثابة مستشعرات نصاب متكافئ في البكتيريا المتسلسلة الموجبة-لغرام هي  $\gamma$ -بيوتايرولاكتونات ( $\gamma$ -butyrolactones)، الأكتونات ذوات الخمس- حلقات المماثلة ل-acyl-HSLs ولكن تفقر لمجموعة أمينو (الشكل ١١.٥). السلسلة الجانبية راحة الماء من البيوتايرولاكتونات، كذلك تعرف جنسياً بالبيوتانيوليدات، وهي في نفس الموضع مثل شطر N-أسيل لنصاب الجزيئات السالبة- لغرام. هناك اختلافات في طول السلسلة الجانبية وبالتحديد في حالة الأكسدة والكيمياء المُجسَّمة (الكيمياء الفراغية) (stereochemistry) للبدل ٦-أو كسو من البيوتانيوليدات بين أنواع المتسلسلة (يامادا ونيهارا 1999, Yamada and Nihara). وفي العنصر بيوتانيوليد- A (A-factor butaneolide) للمتسلسلة جريسيس، هو كيتون، في النوع Im2-بيوتانيوليد من المتسلسلة لافنديولي، وهو  $6\text{-}\beta\text{-OH}$ ، بينما في المتسلسلة فيرجيني، هو  $6\text{-}\alpha\text{-OH}$  (الشكل ١١.٦). البناء الحيوي لبدائل بيوتايرولاكتوز هذه من الأرجح أن ينشأ بواسطة التكثيف الإنزيمي لأيضات الكربونات الثلاث الأولية ثنائي هيدروكسي أسيتون P (P-dihydroxyacetone) حيث يهاجم  $\text{C}_1\text{-OH}$  مجموعة كربونيل المنشطة لثيوإستر  $\beta\text{-keto-acyl-S-CoA}$  أو  $\beta\text{-keto-acyl-S-ACP}$  (أسيل حامل البروتين). هذا الوسيط سيمر بعد ذلك بتكثيف ألدول (aldol) داخلي جزئي، تخفاف، واختزال إنون (enone reduction) لتسفر عن حالة أكسدة ٦- كيتو التي توجد في عنصر- A-المتسلسلة جريسيس (الشكل ١١.٧). إنزيم ريدكتاز التجسمي النوعي (stereospecific reductase) من شأنه أن يتحكم في الإنتاج الآحق لتغيرات ٦-ألفا و٦- بيتا التجسمية الكيميائية (يامادا ونيهارا 1999, Yamada, and Nihara).

هذه الجزيئات الصغيرة التي تنتجها خلية واحدة يمكن أن تنتشر إلى داخل خلية المتسلسلة المجاورة بطريقة تعتمد على كثافة الخلية وتستطيع أن تكون معقد مع البروتين المستقبل داخل الخلية مع الجذب يبلغ جزءاً من بليون من المول (nanomolar). وفي المتسلسلة لافنديولي البروتين الشريك ل- ٦- بيتا- بيوتانيوليد هو المستقبل ArpA بينما في المتسلسلة فيرجيني يرتبط ٦- ألفا- هيدروكسي بيوتايرولاكتون ( $6\text{-B-hydroxybutyrolactone}$ ) يرتبط بمستقبلات BarA المناظرة (الشكل ١١.٦).

تعدُّ عناصر الانتساخ النوعية-لمسار المضاد الحيوي FarA, ArpA, BarA قوامع انتساخ في غياب ريبطات بيوتانيوليد (butaneolide ligands). وعلى سبيل المثال، يجلس BarA على مواضع التحريض ويفقدهم. يعنى التنظيم السالب عن ربط بيوتانيوليد؛ بسبب أن للمعقد الجذب أقل لدنا ويهبط بعيداً، ومن ثم يتوقف القمع ويمكن للانتساخ الجين بالبدء.



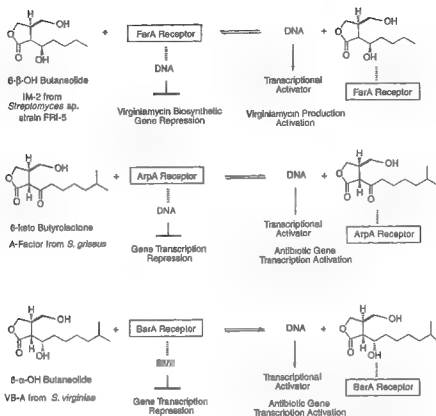
Acyl Homoserine Lactones  
(Gram-Negative)



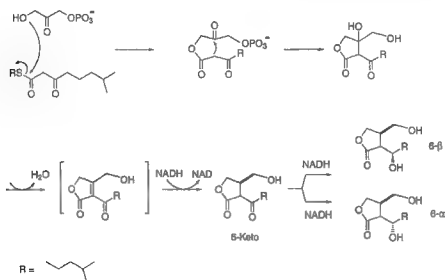
Butyrolactones  
(Gram-Positive)

الشكل (١١,٥). مقارنة اكتمال نصاب جزيئات الاستسار.





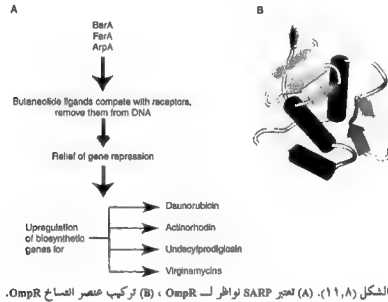
الشكل (١١,٦). مختلف حالات الأكسدة والإختزال عند جزيئات C<sub>6</sub> بيوتانولييد استمطار النصاب والتفاعل التفريقي مع قوائم التسلسلة الانتصاحية *ArpA*, *FarA*, and *BarA*.



الشكل (١١,٧). مسار الهاء الحيوي المفترض لنصاب استمطار بيوتانولييدات.

## تحقيق تكامل الدائرة التنظيمية لإنتاج المضاد الحيوي في المتسلسلات

لقد حدد التحليل الوراثي (الجيئي) أحد أهداف البروتين القامع (الكابت) BarA مثل الجين *vmsR* و *vmsR* له نواظر في مسارات-المتسلسلة الأخرى-المنتجة للمضاد الحيوي: *dnrI* للدونوروبوسين، *actII-orf4* لأكتينورودين (actinorhodin)، و *redD* لكتلة أنديسيروديجوسين (undecylprodigiosin) (كواتشي وآخرون 2000, Kawachi *et al.*). ولقد تم وصف منتجات البروتين لهذه الجينات المستهدفة بـ SARP's (البروتينات التنظيمية لمضادات المتسلسلة) (*Streptomyces* antibiotic regulatory proteins) (تشامبنيس 2000, Champsness). وجميعها منظرية لعناصر الاشريكية القولونية الانتساخية والبروتين الرابط لـ DNA، OmpR (الشكل ١١.٨). ويتميز OmpR بعائلة كبيرة من عناصر الانتساخ تسمى عائلة "الحلزونات الملتحمة - دورة - الحلز" "winged helix-turn-helix" (مارتينيز-هاكيرت وستوك 1997, Martinez-Hackert and Stock، مارتينيز-هاكيرت وآخرون ١٩٩٦م).



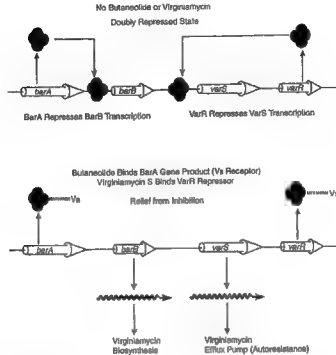
ومع البروتين الحساس المرافق له EnvF، يعد OmpR مكون الجين التنظيمي لنظام الشقنين الاثنين EnvF-OmpR الذي يتحكم في إظهار المسامات البكتيرية الخارج الخلية استجابة للتغيرات في التناضحية (osmolarity) الخارجية. ويزيد فوسفو-OmpR مع الزيادة في التناضحية ويرتبط بأكثر إحكام مع حفاز جيناته المستهدفة، ليقمع انتساخ *ompF* ويفعل انتساخ *ompC*. ومن المحتمل بأن SARP له أساليب بناء مقارنة بتلك في OmpR وتميز حفازات الجين المستهدف بنفس الطريقة، بواسطة فعل حقل نهاية N- (N-terminal domain) المفسفر بواسطة الشكل فوسفو من حساس كيناز المرافق وحقل نهاية-C الذي يرتبط بـ DNA الذي له الجذب للهدف DNA بمعدل بواسطة حالة فسفرة حقل نهاية-N.

عندما ينتج البروتين VmsR بواسطة زيادة انتساخ جين *vmsR*، تكون النتيجة النهائية زيادة بناء كل من فيرجينياميسين M1 و S1. وسواء عمل VmsR مباشرة على جينات بيتيد سينثيز غير الريبوسومي وبوليكتيد سينثيز التي ترمز مباشرة إنزيمات تجمع المضاد الحيوي أو ما إذا وجدت طبقة ثالثة من دائرة البروتين التنظيمي لا يعرف بعد. ويعد *vmsR* نوعي لمسار المضاد الحيوي وليس لأي من مسارات التطورية المنظمة المعاصرة بسبب أن النمط الظاهري للحسم (الضربة الخامسة) نوعي لإنتاج فيرجينياميسين (كواتشي وآخرون 2000, Kawachi et al.). وبشكل مماثل، بروتين ArpA من التسلسلة جريسيس في غياب ريبطة ٦- كيتو بيوتانيوليد يقيم إظهار مختلف الجينات. عندما يعاير نصاب-استشعار الريبطة ArpA خارج تنالي محفز دنا، يوجد ضمن جينات أسفل التيار المتسخة كتلة جين نباتية حيوية لمضاد أمينوغليكوسيد سترتوميسين (يامادا ونهارا 1999, Yamada, and Nihara) (انظر الفصل الرابع عشر).

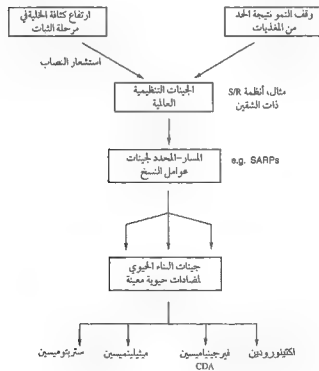
من المحتمل بأن تكون الطبقات الاثنتين لتنظيم جين المضاد الحيوي في التسلسلات، هي المستوى العالمي التي تأثرت بواسطة اللثقين الاثنتين الاستشعار/ المنظمات ومسار SARP النوعي لكل كتلة (مجموعة) مضاد حيوي، ستكون قابلة للتعميم وتستعمل منطق جزئي لتسقيط مشعرات من البيئة عن متى تبدأ تشغيل إنتاج المضاد الحيوي. ذكرنا في الفصل السابع مختلف الأمثلة عن الآليات التي بواسطتها يزود منتج المضاد الحيوي المناعة لذاتهم، ويشمل تنسيق البناء مع تصدير المضادات الحيوي للمحافظة على تركيز المضاد الحيوي داخل الخلية تحت الحد المثبط للنمو.

التنظيم المؤقت لإنتاج وتصدير المضاد الحيوي يتمثل كذلك في قرين التسلسلة فيرجيني BarA. ومباشرة تحت تيار BarA و barB، يوجد اثنين من الجينات *varS* و *varR*. ويبدو بأن بروتين *varS* هو مضخة تدفق فيرجينياميسين، مانحاً مقاومة ذاتية لمنتج المضاد الحيوي بواسطة المحافظة على تركيز داخل الخلية لهذا المضاد الحيوي المستهدف للريبوسوم منخفضاً. وهذه القدرة اكتسبت فقط في الوقت المناسب بواسطة زيادة انتساخ *varS* بواسطة إراحة القمع بواسطة منتج الجين المجاور *varR*، المائل للقاعم TetR (انظر الفصل التاسع). في غياب الريبطات - ذات الخزيئات الصغيرة (Vb بيوتانيوليد ل BarA وفيرجينياميسين S ل VarS)، وبروتينات BarA و VarR تصبح مثبوتة (dimerize) وترتبط بمواضع التحفيز في *barB* و *varS*، لتبقى الانتساخ عند مستويات قليلة أو منعدمة. وعندما يرتفع تركيز Vb بيوتانيوليد لا تكون (زيادة كثافة الخلية) ليشع BarA ويستطيع جزئي فيرجينياميسين S أن يرتبط مع VarR، ويخرج كل من معقدات القاعم - الريبطة من مواضع تحفيز دنا الخاصة بها ويرتفع انتساخ *barB* و *varS*. وهناك حاجة ل BarB للبناء الحيوي لفيرجينياميسين، بينما يعد VarS مضخة التدفق التي سوف تسهل تصدير المضاد الحيوي عندما يتم إنتاجه (الشكل ١١.٩).

أشارت الدراسات حول مجموعة البناء الحيوي للمتسلسلة فراديي (*Streptomyces fradiae*) للميكروبيد تيلوسين العضوية-١٦ (انظر الفصل الرابع عن آلية العمل والشكل ٤.٣ عن التركيب) (ستراتيجيوبولوس وكوندليف 2002 Stratigopoulos and Cundliffe) بأن مجموعة ٤٣- جين هذه التي تشمل 58 kb من دنا، لها خمسة جينات تنظيمية محددة، *tylP*، *tylQ*، *tylR*، *tylS* و *tylT* تلائم (PARADIGM) لتنظيم المتسلسلة التي ذكرت سابقاً لصنف فيرجيناميسين. ويعتقد بأن بروتين *tylP* هو استشعار- نصاب مستقبلي ويعتقد بأن بيوتانيوليد ومعدد الرابطة- المستقبلي يرتبطا عند تنالي دنا مباشرة أمام جين *tylQ*، منهياً إنتاج *TyIQ*. والانخفاض في *TyIQ* يريح قمع انتساخ بروتين *tylR*، الذي يعدّ منظماً عالياً. وهذا يفعل إظهار جينات *tylS* و *tylT* لنتج البروتينات *TyIS* و *TyIT*، التي تعتبر SARPs التي تبدأ تشغيل انتساخ بعض من جينات *tyl* بوليكتيد سينثياز، وجينات البناء الحيوي منزوع الأكسجين (*tyl* (deoxysugar)، المطلوبة لبده تجمع تيلوسين. الخاصة الجديدة في تنظيم مجموعة جين تيلوسين هي الاكتشاف بأن *TyIQ* هو القامع الذي عند المستويات العالية في خلايا المتسلسلة فراديي قبل أن ينتج التيلوسين وينتهي كإشارة مفتاح للمنظم العالمي كما أن انتساخات جين SARP تبدأ. والإشارة لقفل انتساخ *tylQ* لم تحدد بعد. وهكذا فالخطيط لتنظيم إظهار جين البناء الحيوي للأصناف الرئيسة لمضادات المتسلسلة الحيوية (بوليكتيد، الببتيدات غير الريبوسومية، والأمينوغليكوسيدات) يبدأ بالتشكل. إن توفر كامل تسلسل المجين للمتسلسلة كوليكولورسوف يسهل الفهم التفصيلي لكامل الشبكة التنظيمية مع التسلسل الهرمي ونقاط العقد لإشارة التكامل في المستقبل القريب. والآن بالإمكان القول بأن الإشارات الخارجية، وتشمل حدود الغذاء وما يلزمه من بطء النمو أو توقفه من ناحية وكثافة الخلية المعتمدة على - مستويات جزئيات إشارة بيوتانيوليد من ناحية أخرى، والأثر على مجموعة من الجينات التنظيمية العالمية، بعضها سوف يُشفر (يرمز) نظم الاستشعار / الاستجابة ذات - الشقين (الشكل ١١.٩). وبدورها، فهذه سوف تتحكم في التفعيل الانتساخي لعناصر الانتساخ النوعي - لمسار المضاد الحيوي التي سوف تسرع تنظيم الإظهار الانتساخي لمجموعة إنزيمات البناء الحيوي لنتج لوحة (مجموعة) متنوعة من تراكيب المضاد الحيوي (الشكل ١١.١٠) (بيب 1996 Bibb). وبالإمكان التوقع أيضاً بأن تنظيم الإظهار للعديد من جينات الوحدة الفرعية  $\sigma$  70 في المتسلسلة كوليكولور (من رنا بوليميراز سوف يكون جزءاً من الاستجابة المتكاملة. وأظهرت الدراسة على المتسلسلة ليفيدانس (*Streptomyces lividans*) طفرات مقاومة- ريفاميسين رنا بوليميرازي الوحدة الفرعية بيتا التي أصبحت نشطة للبناء الحيوي لأكتينورودين وأنديسيل بروديوجوسين بواسطة تسريع تنظيم انتساخ *redD* و *actII-orf4*. توحي هذه النتائج بأن الطفرات تؤدي إلى استقرار الوحدة الفرعية بيتا المطابقة (المتنزمة) التي تحاكي شكل رنا بوليميراز المحرض بواسطة الإشارات التي تبدأ الشروع في إنتاج المضاد الحيوي استجابة للمنبهات البيئية (هو وآخرون 2000 Hu et al.).



الشكل (٩، ١). إيولانوليد وفيرجينياميسين S في التنسيق لتنظيم للبناء الجيوي لفورجينياميسين.



الشكل (١٠، ١). تنظيم لإدخال الإشارة والشبكات التنظيمية التي تتحكم بإنتاج المضاد الجيوي في التسلسلات. (بالإذن من بيبي 1996, Bibb).

## تنظيم عوامل الفوعة والبناء الحيوي للمضاد الحيوي في البكتيريا السالبة-لغرام بواسطة

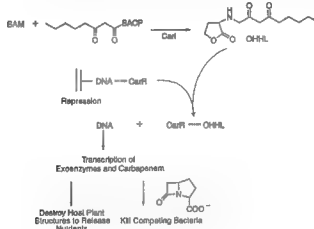
استشعار-نصاب  $N$ -أسيل هوموسيرين لاكتونات ( $N$ -acyl homoserine lactones)

يمكن الكشف عن المنطق التنظيمي للجينات المماثلة في التحكم بعوامل الفوعة وإنتاج المضاد الحيوي في البكتيريا السالبة-لغرام التي تنتج وتفرز أسيل-HSLs بدلاً من بيوتانيوليدات الموجبة-لغرام ككثافة خلية انتشارية معتمدة على استشعار-النصاب و-جزيئات إشارات. ونلاحظ مثالين لاحقاً.

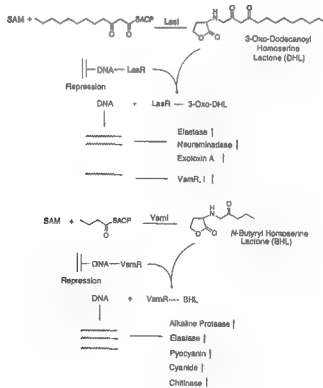
البكتيريا النباتية المسببة للأمراض غالباً ما تفرز إنزيمات (إنزيمات خارجية) ( $exoenzymes$ ) مع القدرة الحالة للماء لتدمر مكونات جدران الخلية النباتية لتطلق الغذاء الذي يمكن بعد ذلك أن يستعمل بواسطة الممرضات. الإروينيا كاروتوفورا (*E. carotovora*) هو أحد هذه الممرضات النباتية ( $phytopathogens$ ) التي تستعمل الكثافة السكانية- المحركة للفيرومون ( $pheromone$ )/نظم إشارات- النصاب لتنظم سريعاً إنتاج وإفراز الإنزيم الخارجي لتنهضم جدران خلية النبات لتجعل الغذاء متاحاً للبكتيريا المحدودة الموارد (سويفت وآخرون 1996 *Swift et al.*). وهذه الإروينيا تستعمل كذلك نفسها منطق الإشارة لتنظم تنسيقاً جينات للبناء الحيوي للكربامينيم (الشكل ١١.١١). تقتل مضادات البيتالكتام الحيوية البكتيريا المجاورة التي من شأنها التنافس على غذاء الخلية النباتية المنبعث وتعقم البيئة الدقيقة باستثناء إروينيا المنتجة. يظهر الشكل (١١.١١) تخطيط لإنتاج ٣-كينو-اوكتانويل هوموسيرين لاكتون ( $OHHL$ ) ( $3$ -keto-octanoyl homoserine lactone) بواسطة إنزيم *CarI* لإروينيا كاروتوفورا وربطها مع البروتين الكايح الانتساخي *CarR*، مطلقاً معقد  $OHHL$ -*Car* من المواضع المعرضة للجينات المستهدفة وإعفاء الكيت الانتساخي. يدمر بناء وإفراز الإنزيم الخارجي تراكيب الخلية النباتية المضيفة، ليطلق الغذاء. وبالتوازي يقتل الكربامينيم (انظر الفصل الثالث عشر لمسار لبناء الحيوي) البكتيريا المنافسة. هناك بعض المنافسات البكتيرية التي تعلمت أن ترد الضربة: تستطيع سلالات العصية البشة أن تفرز أسيل-HSL-لاكتونيز ( $acyl$ -HSL- $lcnase$ ) الذي يحلل مائياً جزيئات الإشارة الخارج الخلوية، تاركاً إروينيا كاروتوفا غير قادرة على صنع المضادات الحيوية (دونج وآخرون 2000 *Dong et al.*).

المثال الثاني هو المقدم بواسطة البكتيريا الممرضة الزائفة الزنجارية وبيولوجية استشعار النصاب لها. وما لا يقل عن اثنين من  $HSLs$  معروفة في هذه الكائنات السالبة - لغرام،  $3$ -oxo-dD-HSL و  $3$ -keto-dodecanoyl-HSL و  $N$ -acyl-HSL حيث السلسلة أقصر ومشعبة، وهي ( $BHL$ )  $N$ -butyryl-HSL (الشكل ١١.١٢) (وينزر وآخرون 2000 *Winzer et al.*). ولقد اقترح بأن نظامي نصاب الاستشعار يعمل في تنالي هرمي (سويفت وآخرون ١٩٩٦) لإنتاج عناصر الفوعة. وكما هو مبين في الشكل (١١.١١)، فإن  $3$ -oxo-dD-HSL ينشأ أولاً بفعل سينثاز *LasI* ( $LasI$  synthase) عند كثافة خلية محددة. وترتبط هذه بالجاذب عالي مع قاعم *LasI* ويسمح بانتساخ الجينات التي تصنع هذه الإنزيمات مثل إيلاستاز (*elastase*) ونيورامينيداز (*neuraminidase*) وبروتين السم الخارجي *A*. وكذلك يريح قمع انتساخ جين *vsmR*.

وبروتين VsmI هو أيضاً أسيل-HSL سيتيتاز، وهذه المرة لـ BHL، مستشعر نصاب قصير-السلسلة، الذي يعدّ ربيطة نوعية لقامع VsmR. المعقد BHL-VsmR يقع دنا بعيداً ويُفعل انتساخ المزيد من إيلاستاز و بروتياز القلوي (alkaline protease)، كيتيتاز (chitinase)، بيوسيتين (pyocyanin)، وسيانيد (cyanide).



الشكل (١١، ١١). تنظيم الإنزيم الخارجي وإنتاج مضاد كايباييم الحيوي في إيثرينيا كاروتوفا بواسطة أسيل هوموسيتين لاكتون OHHL.



الشكل (١١، ١٢). تنالي مزدوج لنصاب الإشارة إن - أسيل هوموسيتين لاكتونات في الزرافة الزنجارية.

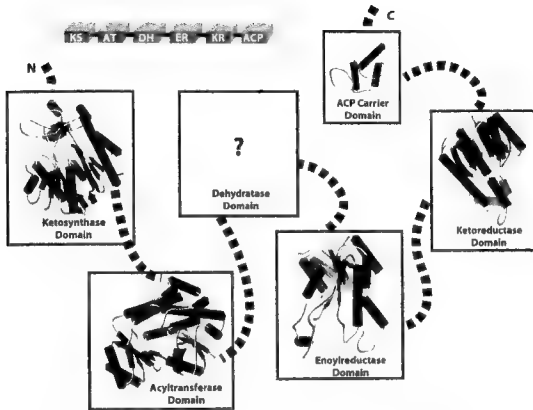
وجزيء نصاب-الاستشعار الثالث في الزائفة الزنجارية تم وصفه في الآونة الأخيرة ككيان تركيبى متميز، ٢- هيبثيل-٣-هيدروكسي-٤-كوينولون (2-heptyl-3-hydroxy-4-quinolone)، الناشئ من أنثرانيليت (anthranilate) و المانع ٣- كيتو-ديكانويل أسيل (3-keto-decanoyl-acyl donor) (كالفي وآخرون 2001، Calflee *et al.*). وهذا الكوينولون الزائفي هو جزء من استشعار-النصاب الهرمي ويتحكم في البناء الحيوي للعديد من عناصر الفوعة، لذلك منع بنائه الحيوي أو عمله قد يكون خطة مضادة للزائفة.

### الموجز

تعدُّ لآكتونات *N*- أسيل هوموسيسيتين من بكتيريا إروينيا، الزائفة، وغيرها العديد من البكتيريا (تشودير وباسلير 2001، Schaudler and Bassler) و٧- بيوتاريولاكتونات من المتسلسلات التي ذكرت أعلاه، تخدم أغراضاً مكافئة، كfermonats ذات - وزن - جزيئي - منخفض لإيصال الإشارات المعتمدة على - كثافة السكان بين البكتيريا من النوع نفسه. وتشارك في نفوذ الغشاء والأعمال مثل تفعيل الريبطات لعناصر الانتساخ النوعية، بينما تبنى النوعية (الخصوصية) عند مستوى تمييز مستقبل - الربيطة. وسوف نلاحظ مجموعة ثالثة من ريبطات خارج الخلية، الببتيدات الصغيرة في سلاسل المكورة العنقودية الذهبية، في الفصل الخامس عشر التي تجسد منطق مقارن للاتصال من الظروف الخارجية على النمو ودائرة إنتاج المضاد الحيوي في البكتيريا. ونظم الإشارة هذه سبب للتحكم في جميع الأصناف الرئيسة لجينات البناء الحيوي للمضاد الحيوي.







الزخارف التركيبية في الحقول المحفزة والناقلة في خطوط تجمع بوليكتينيد سينثتاز

## البناء الحيوي لمضادات بوليكتيد (متعدد الكيتيد) المبيوية:

### مبحث إنزيمات خط- التجميع

#### POLYKETIDE ANTIBIOTIC BIOSYNTHESIS: ASSEMBLY-LINE ENZYMOLOGY

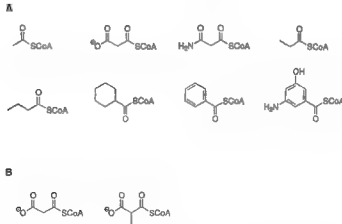
المميزات العامة لبوليكتيد سينثازات والمقارنة مع سينثازات الحامض الدهني

توجد الجينات التي تشفر منتجات بوليكتيد الطبيعية في مجموعات، ويفترض أنها تسهل تنسيق التنظيم وتخريض الإظهار لجميع مكونات البروتين المطلوبة للعديد من الخطوات في مسارات البناء الحيوي المتخصصة هذه، عندما تستقبل وتحول عبراً الإشارة المناسبة، للأنواع التي ذكرت في الفصل الحادي عشر. وتجتمع الجينات البنائية الحيوية كذلك مع مضخات التصدير وأي جينات مانحة للمقاومة أخرى وكما ذكر في الفصل السابع، لتبدأ تشغيل آليات الحماية - الذاتية في الوقت نفسه. ويوصى بالمراجع الشاملة بواسطة (رولينجز 1999، Rawlings، رولينجز، Rawlings، 2001 a، رولينجز 2001 b) لتحليل الكامل لكل من النوع I والنوع II من بوليكتيد سينثازات. وهذه المراجع كذلك تسمح بالدخول إلى الأدبيات الضخمة حيث ناقشت المسارات الكيميائية للبناء الحيوي لأصناف المنتجات الطبيعية في الفصول من الثاني عشر إلى الفصل الرابع عشر التي العمل بها، متيحة إطار العمل الذي سمح بتفسير وظيفة كل حقل بروتين مع الخطوات الكيميائية المعينة في خطوط تجميع متعددة الوحدات بمجرد أن أصبحت تسلسلات الجين متاحة.

الكيمياء المعمارية بواسطة بوليكتيد سينثازات (polyketide synthases (PKSs)) موازية بشكل مقارب لتلك في إنزيم حامض الدهن سينثازات (FASs) (fatty acid synthases)، الذي تمت دراسته بشكل مستفيض لعقود لتلك آليات وتنظيم ولقد قدمت سوابق لفهم منطق PKS. كل من إنزيمات PKSs وFAS تحول السلسلة القصيرة لثيوإسترات أسيل CoA-S- إلى منتجات أسيل - طويلة - السلسلة بواسطة سلسلة من دورات الإطالة المتكررة التي تضيف اثنين من (FAS,PKS) أو ثلاثة وحدات كربون (PKS) لكل دورة إطالة (انظر شين 2000، Shen). قوالب البناء التي تستعمل لبدء السلسلة في FAS عادة هي أسيتيل-CoA (acetyl-CoA)، في حين أن قوالب البناء للإطالة غالباً

تكون مالونيل-CoA (malonyl-CoA). وحدات أسيل للبدء في PKS يمكن أن تكون تشكيلة أكثر تنوعاً من مجموعات أسيل، وتشمل أسيتيل، مالونيل، مالوناميل (malonamyl)، بروبيونيل (propionyl)، بيوتيريل (butyryl)، سيكلوهيكسيل (cyclohexyl)، بنزويل (benzoyl)، و ٣-هيدروكسي-٥-أمينو بنزويل (الشكل ١٢.١). أثناء تمديد السلسلة، تستعمل معقدات FAS مالونيل-CoA في حين أن محفزات PKS عادة ما تصنع خيار واحد أو أكثر لقوالب البناء في كل دورة إطالة، مالونيل- أو ميثيل مالونيل-CoA (methylmalonyl-CoA) (الشكل ١٢.١). ونادراً، يمكن أيضاً أن يستخدم إيثيل مالونيل وميثوكسي مالونيل-CoAs (methoxymalonyl) كوحدات مد. وكما لوحظ أدناه، فنزع الكربوكسيل (decarboxylation) من وحدات مد مالونيل أو ميثوكسي مالونيل هو ميكانيكياً ملزم لإطالة السلسلة، وهكذا يؤدي مالونيل-CoAs إلى مد السلسلة بواسطة ٢ كربونات بينما يضيف ميثيل مالونيل CoAs وحدة C<sub>3</sub>-ميثيل متشعبة (C<sub>3</sub>-methyl branched unit).

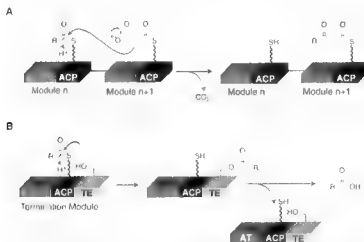
في حفازات FAS و PKS تُوجد حقول متعددة أو وحدات فرعية تشارك في خطوات نوعية لبدء السلسلة، الإطالة والإنهاء. وعندما تُجمع الحقول في *cis* كجزء من وحدات فرعية كبيرة، ومتعددة الحقول، تسمى أنظمة PKS النوع I. وعندما تتناثر (تتبعثر) حقول البروتين الحفاز والناقل كوحدات فرعية منفصلة، في ترانس (*trans*)، التي تتزامن مؤقتاً وتفكك في كل دورة حفزة، فتسمى هذه النوع II سينثازات (type II synthases). وسوف نفحص أولاً النوع II سينثازات، في الفصل التالي، لأنها تأتي في قطع منفصلة وتسلط الضوء نحو دور الحقول الفردية التي يتم جمعها في خطوات تجميع نموذجية لسينثازات من النوع I.



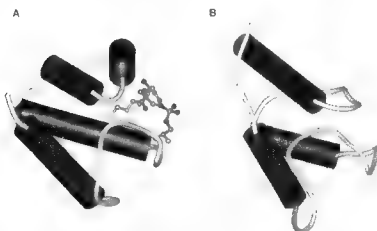
الشكل (١٢.١). قوالب البناء لـ (A) دورات البدء و (B) الإطالة بواسطة عيوط تجميع PKS.

الخاصية المركزية لكل من حفازات FAS و PKS هي أن موحودات أسيل-CoA المفعلة ديناميكياً وحرارياً (thermodynamically) والتي تُخدم كل من بدء السلسلة وإطالة السلسلة تحوّل إلى وسائط إنزيم-أسيل-S (acyl-S-enzyme)

وكيمياء تشكيل الرباط C-C (C-C bond forming chemistry) في كل دورة من إطالة السلسلة (الشكل ١٢،٢ أ) تحدث على إنزيمات أسيل-S المربوطة تساهمياً. ويعد عدد مناسب من دورات الإطالة عند إنتاج الطول-الكامل لسلسلة أسيل، يكسر ارتباطها التساهمي نحو إنزيم S بواسطة حقل محفز متخصص لإنهاء السلسلة (النوع I) أو وحدة منفصلة (النوع II) تسمى ثيوستيراز (thioesterase) (TE) (الشكل ١٢،٢ ب). الثيول (thiol) المقيد على الإنزيم في جميع وسائط إنزيم أسيل-S يتم توفيره بواسطة مجموعة فوسفوناتيئين البدلية (phosphopantetheine prosthetic group) ذات الطول 20 - Å التي أدخلت بعد الترجمة على سلسلة سيرين نوعية جانبية في الحقل ٨ - ١٠ kDa / الوحدة الفرعية المسمى بروتين حامل الأسيل (ACP) (acyl carrier protein) (انظر الشكل ١٢،٣ و B).

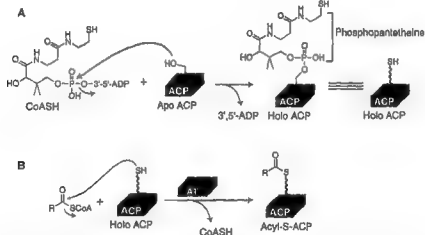


الشكل (١٢،٢). (A) إطالة السلسلة و (B) الخطوات الكيميائية إنهاء السلسلة في خطوات تجميع PKS.



الشكل (١٢،٣). تركيب حقول بروتين أسيل الناقل من (A) كامل حقل ACP للمصبة المشعة FAS، مع مجموعة فوسفوناتيئين البدلية المبنية في الممثل بالكرة والعصا، (B) الشكل apo ACP لاكتينورودين سينثيز من المتسلسلة كوليكلول.

وهكذا فحقل ACP هو ناقل البروتين غير الحفّاز لسلسلة أسيل النامية، والمحاطة بمجموعة من الحقول الحفّازة المكرّسة، إما في *cis* (النوع I) أو في *trans* (النوع II). قبل عملية فوسفوانثينيليشن (phosphopantetheinylation)، بواسطة الإنزيم المعدّل المعروف بفوسفوانثينيل ترانسفيراز (PPTase) (phosphopantetheinyltransferase) (لامبالوت وآخرون 1996، Lambalot *et al.*)، والبروتين الناقل في الشكل غير الفعال (apo form) (الشكل ١٢،٤ A). بعد التعديل، ذراع HS- بانتينيل (HS-pant) (HS-pant) من CAP الكامل هو كيميائياً مؤهل ليخدم كموضع تحميل لمجموعة أسيل التي أحضرت كأسيل-CoA ثيوإسترات (acyl-CoA thioesters) بواسطة عبرترانسثيوليشن (transthiolation) عن طريق الفعل المحفز لحقل أسيل ترانسفيراز (acyltransferase (AT) (الشكل ١٢،٤ B) أثناء بدء السلسلة وللسلسلة النامية أثناء دورات الإطالة.

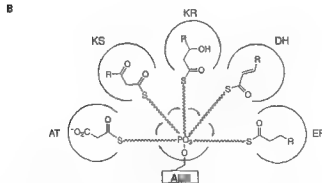
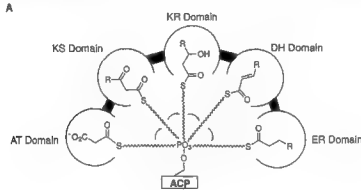


الشكل (١٢،٤). حقل البروتين الناقل لأسيل (A) التحويل الكامل لـ apo بواسطة التمهيد بعد الالتصاق مع فوسفوانثينيل، (B) توجيه holo HS-ACP مع مجموعات أسيل بواسطة ترانسثيوليشن (transthiolation) عن طريق تحفيز حقل AT.

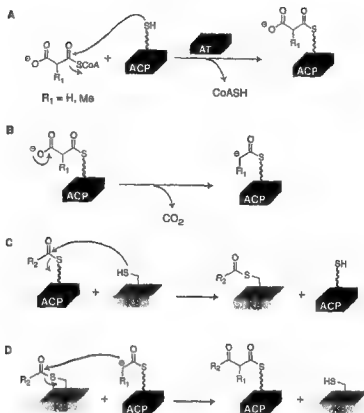
في النوع I لمعقدات FAS و PKS سوف تكون حقول ACP كاملة ومتعددة في خط التجميع، وتشمل سلسلة الإطالة تغيير موضع سلسلة أسيل النامية من أعلى تيار إلى اتجاه تيار المطبوعات (modules)، مع كل ACP كامل يُخدم كمحطة تحميل (الشكل ١٢،٥ A). وتوجد في النوع II لمعقدات FAS و PKS، وحدة ACP فرعية واحدة، وبنيت سلسلة أسيل بواسطة دورات تكرارية من الإطالة بينما تظل مربوطة تساهمياً مع نفس سقالة بروتين ACP (الشكل ١٢،٥ B).

الخطوات الكيميائية التي نفذت بواسطة صفوف FAS و PKS هي نفسها. أولاً، يحمل مالونيل- أو موحود ميثيل مالونيل-CoA على حقل HS-pant-holo ACP بواسطة ترانسثيوليشن (transthiolation) تحت حماية حقل AT

لينتج مالونيل - أو ميثيل مالونيل S-ACP (الشكل ١٢.٦ A). وهذا acyl-S-ACP سوف يتحد ككربون أليف النواة، عندما يخضع إلى نزع الكربوكسيل (دي كربوكسيليشن) ليعطي C<sub>2</sub>- كاربانيون المستقر المكافئ (C2-stabilized carbanion equivalent)، الممكن بواسطة ربط الثيوإستر (الشكل ١٢.٦ B) في خطوة تكوين الرابطة C-C bonding. يتم توفير مانع الأسيل الأليف الإلكترون لرابطة C-C بواسطة مجموعة أسيل التي رُسبت مؤقتاً كوسيط إنزيم أسيل-إس (acyl-S-enzyme intermediate) عند الموقع النشط للحقل كيتوسيتيز (KS) أو الوحدة الفرعية (الشكل ١٢.٦ C). ويربط وسيط أسيل التساهمي هذا مع الموقع النشط سيستين لحقل KS وينشأ بواسطة تفاعل ترانسثيوليشن (transthiolation reaction) مماثل. وتحفز خطوة تكوين رابطة C-C بواسطة حقل KS الذي يحرض نزع الأسيل من مالونيل - أو - ميثيل مالونيل (methylmalonyl-S-ACP) وينقل سلسلة الأسيل من الموقع النشط - سيستين إلى C<sub>2</sub> كاربانيون/إنولييت (C<sub>2</sub> carbanion/ enolate) (الشكل ١٢.٦ D). وسواء حدث نزع الكربوكسيل (ديكربوكسيليشن) أولاً أو اقترن في نفس حالة الانتقال نحو تكوين رابطة C-C لم يؤكد بالكامل. والنتيجة هي منتج  $\beta$ -keto-S-ACP (حيث جاءت التسمية كيتوسيتاز) حيث منبع سلسلة أسيل قد انتقل إلى نحو acyl-S-ACP أثناء إطالة السلسلة.



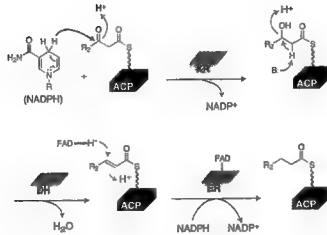
الشكل (١٢.٥). تفاعلات ACP (A) في نوع I PKS وFAS، داخل كل وحدة قياسية، (B) في نوع PKS وFAS، بين الوحدات الفرعية المنفصلة.



الشكل (١٢، ٩). أربع مراحل تكوين رابط C-C خطوات إطالة السلسلة لتجميعات FAS و PKS: (A) تكوين مائوليل أو مائوليل -S-ACP، (B) نوع الكربوكسيل لتوليد الكربون ألفا الواق، (C) المانح  $\beta$ -keto-acyl-S-ACP، (D) المانح  $\beta$ -keto-acyl-S-ACP.

الخطوات الإنزيمية الثلاثة التالية، المقدمة في *cis* (النوع I) أو في *trans* (النوع II)، يتضمن صافي إختزال أربعة - إلكترون من  $\beta$ -keto من كل الطريق إلى مجموعة بيتاميثيلين ( $\beta$ -methylene) في البناء الحيوي للحمض الدهني. وفي تحفيز FAS تأسست هذه لتحديث بواسطة الفعل التالي لحقول/الوحدات الفرعية كيتوريدكتيز (ketoreductase (KR)، ديهيدراتيز (DH)، وإنويل ريدكتيز (enoyl-reductase (ER)، بالترتيب (الشكل ١٢، ٧). يستعمل الحقل الحفاز KR، NADPH ليختزل الكيتون إلى مستبدلات بيتا-هيدروكسي. وبالإمكان استخراج ألفا-هيدروجين الحامضي من  $\beta$ -OH-acyl-S-ACP بسهولة في الموقع النشط DH ليشعر في التخلص من مجموعة OH ينتج  $\alpha\beta$ -enoyl-S-ACP. ويمكن فيما بعد لهذه الرابطة المزدوجة المقترنة أن تختزل بواسطة إضافة بروتون-هيدريد من الإنزيم المشارك المختزل فلافين (flavin coenzyme)،  $FADH^-$  في الموقع النشط لـ enoyl-S-ACP reductase، مع إضافة هيدريد إلى C $\gamma$  ليتنج  $C_7H_{12}C_8H_{12}$  المشيع بالكامل ذات اثنين - كربون وحدة باسطة.

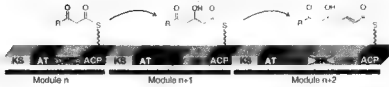




الشكل (١٢،٧). ثلاث-مراحل لإختزال أوبج- إلكترون من مجموعة بيتا-كيتو: العمل التعالي لحقول DH, KR و ER.

مع تسلسل عمل دورة الإطالة FAS كمرشد ، بالإمكان تحليل دورات PKS بشكل مائل. وتقدم الوحدة القياسية النمطية من النوع I المزيد من تنوع المجموعة الوظيفية في تراكيب المنتج النهائي بواسطة النضج غير الكامل لوحادات الإطالة عندما يكون حقل DH, KR أو ER غير وظيفي. تحصل إطالة السلسلة، ولكن حالات الأكسدة الوسيطة تستمر ويمكن تحويلها إلى مصب الوحدة النمطية التالية. وكما يظهر في الشكل (١٢،٨) للثلاث وحدة قياسية الافتراضية نوع I PKS، هناك خلل في حقل KR للوحدة النمطية  $n$  سوف يترك كربون بيتا في حالة أكسدة كيتو (keto oxidation state). وفي النمط  $n + 1$  يترك الخلخل عند الموقع النشط لحقل DH بيتا كربون للوحدة  $C_2$  التي أدخلت في تلك الدورة كبيتا-OH. وأخيراً، الخلخل في حقل ER للنمط  $n + 2$  سيسمح لـ  $\alpha/\beta$ -ene البقاء. الفعل الحال للماء لحقل TE ليحرر سلسل أسيل ثمانية - كربون من  $ACP_{n+2}$  سوف ينتج سلسلة بوليكتيد العالية الوظيفية. وهكذا فإن الفرق الرئيس بين FAS وخط تجميع النوع I PKS هو خسارة الوظيفية في واحد أو أكثر من حقول التكيف (الحياطة) في النمط PKS المعطى. وحيث ثلاث دورات من الإطالة بواسطة خط تجميع PKS سوف تنتج أوكتانويات (octanoate) المشبع بالكامل، المنتجات الطبيعية PKS قد أوقفت عند مراحل متوسطة من اختزال مجموعات بيتا-كيتو التي تنشأ في كل دورة تكثيف، وبذلك يسمح للكيمياء التالية وخواص التمييز الجزيئي لصنف هذا المنتج الطبيعي.

وبإمكان معقدات النوع II PKS أن تظهر كذلك تغييرات مثيرة في كل من حالات الأكسدة للوحدة الباسطة وعدد من التراكيب الحلقية عندما يطلق منتج بوليكتيد النهائي. وكما سنلاحظ في القسم التالي، فإنه من المحتمل بأن تحدث تراكيب حلقية متعددة من البوليكتيد العطري من متوسطات بوليكتيد بدون اختزال جوهري لمجموعات بيتا-كيتو المتعددة في متوسطات  $acyl-S-ACP$ .

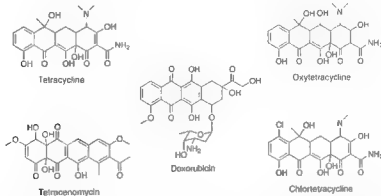


الشكل (١٢٨). فرعية حط الأكسدة غير الكامل في ثلاث دورات من خط تجميع PKS.

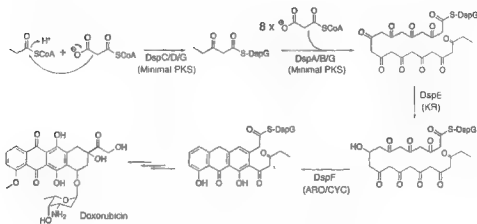
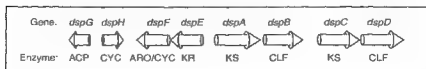
النوع II من تنظيم بوليكتيد سينثازات: تتراسايكلين، تتراسينوميسين (tetracenomycin)،

وكتل البناء الحيوي للدونوريسين وعمل سيكلازات (cyclases)

الحلقات الأربع لعائلة مضادات تتراسايكلين الحيوية، مثل أوكسيتراسايكلين (oxytetracycline) وكلورتتراسايكلين (chlortetracycline) (الشكل ١٢٩)، وكذلك تتراسينوميسين والمضاد الحيوي المضاد للورم دوكسوروبيسين (doxorubicin) (الشكل ١٢٩) تنتج بواسطة النوع II بوليكتيد سينثازات إضافة إلى بعض الإنزيمات العطرية أرومانازات (aromatases) وسيكلازات كذلك تظهر في الكتل (المجموعات) (الشكل ١٢١٠) (انظر تشين ٢٠٠٠، للمرجع الأخير عن PKS العطرية). تختلف مجموعة أوكسيتراسايكلين (oxytetracycline) عن تجميعة كانونيكال (canonical assembly) بواسطة امتلاكها مجموعتين من الجينات، الأدنى الوحدات الفرعية الثلاث من PKS وهي  $KS_{II}$ ،  $KS_{III}$ ،  $KS_{IV}$  تعرف كذلك بالوحدات الفرعية CLF (chain length factor) (عنصر طول السلسلة)، وACP في ترادف، ومن ثم KP و أوماتيز ثنائي الوظيفة/ سيكلاز يبعد بعض 10 kb عنه (انظر بيتكوفيك وآخرون 1999، Petkovic *et al.*). النوع I PKS الأدنى في هذا وفي الأنظمة ذات العلاقة، مثال، البناء الحيوي لأكتينورودين (actinorhodin) بواسطة المتسلسلة كوليكولر (هوبوود 1997، Hopwood، 1997، Khosla، 1997)، يُعتقد بأنه يستعمل زوج  $KS_{II}$  /  $KS_{III}$  من الوحدات الفرعية كمثنوي وظيفي، ربما مع الوحدة الفرعية بيتا المختلة تحفيزياً التي تخدم جزئياً كـ CLF (عنصر طول السلسلة)، معدلة عدد دورات مد السلسلة قبل حدوث التحليق (cyclization).

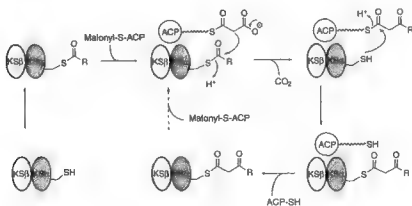


الشكل (١٢٩). مضادات بوليكتيد تتراسايكلين العطرية المتولدة بواسطة النوع II PKS: تتراسايكلين، أوكسيتراسايكلين، كلورتتراسايكلين، تتراسينوميسين و دوكسوروبيسين.



الشكل (١٢، ١٠). التنظيم الوحدات لـ *PKS* الذي ينتج مضاد فتراسيكن العطري دوكتوريوسين.

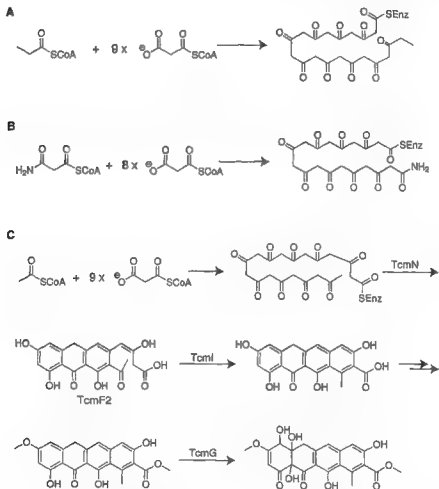
يوفر الشكل الكامل (holo form) من *HS-pant-ACP* الثيول (thiol) حيث يتجمع مالونيل-*S-ACP* الأول بينما تُحمّل وحدة أسيل البائدة فوق الموقع النشط سيستين ثيول من الوحدة الفرعية *KS<sub>n</sub>*. بعد ذلك يحفز *KS* المؤسّل مالونيل ديكر بوكسيليشن وينقل أسيل نحو انيون إنوليت (enolate anion) النامي ليتنتج  $\beta$ -keto-acyl-*S-ACP* ويتجدد *KS* سيستين ثيوليت (KS cystein thiolate) لدورة الإطالة التالية (الشكل ١٢، ١١). ومن الضروري نقل السلسلة ثانية نحو *KS* الموقع النشط سيستين لتسمح لتكرار آخر لتكوين رابط C-C المحفز هذا ودورة الإطالة (تظهر بواسطة إضافة مالونيل-*S-ACP* في وسط الشكل).



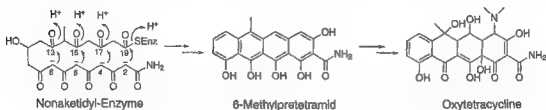
الشكل (١٢، ١١). دورات إطالة السلسلة المتكررة لنوع *FAS* و *PKS II*.

في البناء الحيوي لدونوروبيسين أو دوكسوروبيسين، الوحدة البادئة هي بوريونيل CoA (propionyl-CoA) وجميع الوحدات الباسطة هي مالونيل-CoA. وبعد تسع دوات تكثيف يبنى ديكايكتيديل-S-ACP (*decacondyl-S-ACP*) (الشكل ١٢، ١٢)، حيث يعتقد بأن جميع مجموعات بيتاكتون العشرة تبقى بدون تعديل اختزالي في سلسلة أسيل. وبشكل مشابه، يستعمل أوكسيتراسيكلين سينثياز نصف الأמיד التابع مالونيل-CoA، مالوناميل-CoA، كوحدة بادئة ولثمانية مالونيل-CoA كوحدة باسطة لبناء ١٩-كربون-سلسلة نوناكتيديل-S-ACP (*nonaketidyl-S-ACP*) كسلسلة أسيل كاملة الطول قبل التحليق (الشكل ١٢، ١٢ B). الوحدة البادئة تتراسينوميسين هي أسيتيل-CoA، وبعد إضافة تسع وحدات مالونيل-CoA، يجري ٢٠-كربون نوناكتيديل إنزيم S- (*20-carbon nonaketidyl-S enzyme*) (الشكل ١٢، ١٢ C) دورتان من إغلاق الحلقة متواسطة - بسيكليز (cyclase-mediated)، سيكليز الأول، TcmN، يغلّق ثلاث حلقات ليصنع TcmF2، ويغلّق الحلقة الأخيرة ليعطي نظام الحلقات - الأربع المدمجة المشابهة لبيكل تتراسيكلين. الإنزيمات المخيطة بعد PKS/سيكليز تؤمّل أحد مجموعات فينوليك OH ومجموعة COOH ومن ثم تستعمل إنزيم أكسجينيز TcmG، (oxygenase)، لتدخل مجموعات الثلاث هيدروكسيل في تتراسينوميسين C، الذي ربما ينشأ من الأكسجة - الأحادية (mono-oxygenation) للحلقة A ومن ثم epoxidation وفتح التحليل المائي للإبيوكسيد (epoxide) عند وصلة (مفصل) حلقة A/B (انظر هتشينسون 1997، Hutchinson، للمراجعة) (الشكل ١٢، ١٢ C). عندما تطرد جينات أروماتيز وسيكليز (aromatase and cyclase genes) في كتل النوع PKS II هذه، مختلفة، أو أن تكون غائبة، ثم تبدأ أنماط التحليق الشاذة بمجرد أن إنزيمات بوليكتونيك أسيل (polyketonic acyl enzymes) الفعالة تكثف غير إنزيمياً لمختلف المنتجات الحلقية التي تُطلق من هيكل ACP. لا يعطي أحد من الطرق غير الإنزيمية أنظمة تتراسيكلين (tetracyclic systems) الطبيعية، مما يدل على أن سيكلازات مهم في كلا الوضعين المشكل الثنية المنتج لسلسلة بوليكتونيك أسيل الحلقية ومن ثم تحفيز التحليق الموضعي النوعي والتجفافات إلى أنماط اتصال المنتج الطبيعي. تحتوي بعض كتل النوع II على سيكلازات متعدد، مثال، TcmI و TcmN في كتلة تتراسينوميسين (الشكل ١٢، ١٢) و DpsF و DpsH في كتلة دونوروبوسين (الشكل ١٢، ١٠)، ويفترض بأنها تميز مختلف التراكيب اللاحلقية التحتية وتحفز عمليات التحليق جزئية (انظر هتشينسون 1997، Hutchinson، للمراجعة). الخطوط العريضة لإستراتيجيات تكوين رابط C-C ونقاط التدوير غير واضحة، ولكن التوقيت وتفاصيل الخطوات ليست مدروسة جيداً إلى الآن. وعلى سبيل المثال، في تكوين الأربع حلقات لبيكل تتراسيكلين، يفترض بأن يطوي إنزيم نوناكتيديل في القالب مثل روابط كاريون-كاريون أنشئت بين C<sub>17</sub> و C<sub>19</sub>، C<sub>6</sub> و C<sub>13</sub>، و C<sub>8</sub> و C<sub>13</sub> (الشكل ١٢، ١٣)، مع C<sub>8</sub> و C<sub>2</sub>، C<sub>4</sub> و C<sub>6</sub> تعمل كمكافئات لكارياتيون (أشكال رنين إينوليت) (enolate resonance forms) لمهاجمة الكيتونز عند C<sub>13</sub> و C<sub>17</sub>، بالترتيب، لتوليد نظام الأربع-حلقات المدمج العطري (٦-ميثيل بريترتيراميد) (6-methylpretetramid).

يجب أن تحدث التضافات الآخرة والتعطير للحلقة على اليد اليسرى، عمليات إضافة الهيدروكسيل (hydroxylations)، ضبط الأكسدة والاختزال، الأمينية (amination)، والمثيلة الثانية (dimethylation) عن طريق سلسلة من الإنزيمات الحائكة لتنتج أوكسيتترايسكلين النهائي من طليعة هذا التترايسكلين (هتشينسون وفوجي 1995, Huchinson and Fujii).

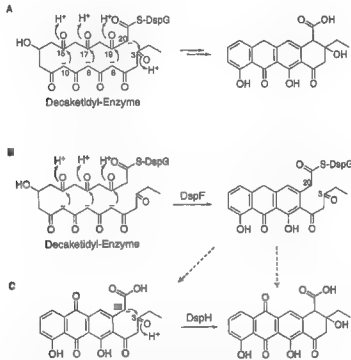


الشكل (١٢، ١٣). مضافات إنزيم بوليكتيد-S: (A) دونوروبوسين سينثياز، (B) تراسيسكلين سينثياز، (C) تراسيتوهيسين سينثياز.



الشكل (١٢، ١٣). تفاعلات تكوين- الرابط في بوليكتيد-S - تراسيسكلين سينثياز إنزيم أسهل.

في البناء الحيوي لدوكسوروبيسين يوجد اثنان من الكربونات الإضافية في طليعة ٢١- كربون ديكأكتيتيديل- S-ACP (21-carbon decaketidyl-S-ACP) اللا حلقي ، وبينما يجري له إغلاق للحلقات الأربع متواسط بسيكلز ، يكون الوصل المؤسس مميز (الشكل ١٢، ١٤ A) ، مما يفترض هيئة مطوية مختلفة لسلسلة أسيل الأحلقة هذه. تخرض مكافئات الكاربانيون عند  $C_{10}$  و  $C_3, C_6, C_8$  لتهاجم مع بموضعية نوعية الكيتونات الأربع عند  $C_{15}$  و  $C_{20}, C_{19}, C_{17}$  ، بالترتيب ، بينما تقع جميع تفاعل التحلقات الجانبية غير الإنزيمية. ويبدو أن مُحلقة DpsF (DpsF cyclase) يصنع الحلقات الثلاث الأولى (الشكل ١٢، ١٤ B) ربما قبل فصل الارتباط لسلسلة أسيل من هيكل ACP. وعليه ، DpsH (الشكل ١٢، ١٤ C) ربما يَحْلِقُ الحلقة الأخيرة ، صانعاً بذلك الوصلة  $C_3$ - $C_{20}$  ومطلقاً سلسلة أسيل من ACP.



الشكل (١٢، ١٤). البناء الحيوي لدوكسوروبيسين: (A) خطوات تكوين رابط C-C من قالب الإنزيم المرتبط ، (B) تحليق الثلاث حلقات الخواص بـ DpsF ، (C) عمل DpsH وتفاعلات بعد حياكة ميتياز (postsynthetic tailoring reactions).

وإكمال المضاد الحيوي دوكسوروبيسين المضاد للورم يشمل الأكسجة عند  $C_{16}$  و  $C_{18}$  ليحدث نظام كوينون-هيدروكسيكوينون (quinone-hydroxyquinone system) الرديف في الحلقتين الوسطيتين وارتباط بالغليكوزيل (glycosylation) لـ OH عند  $C_3$  مع سكر أمينوديوكسي دونوسامين (aminodeoxy sugar daunomamine) غير العادي (هتشينسون 1997) (Hutchinson, 1997) بواسطة الإنزيم الحائك المُرْمِز بواسطة الجينات المجاورة لكتلة البناء الحيوي.

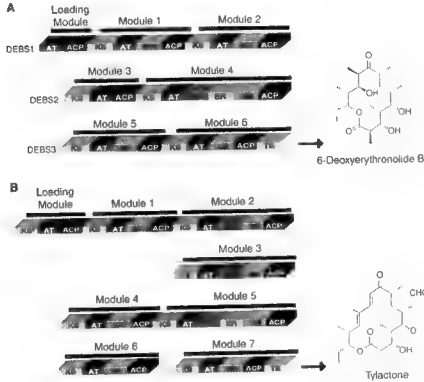
بينما الوحدات الفرعية الدنيا للنوع II PKS تبدو أن تكون «KS<sub>0</sub>KS<sub>1</sub>» وACP، فلكنته دوكسوروبوسين مجموعتان من KS<sub>2</sub> وKS<sub>3</sub>، KS<sub>4</sub> وDpsC/ DpsD وDpsA/ DpsB (الشكل ١٢.١٠)، والتي يُعتقد بأنها تعمل دورة التكثيف الأولى (C/D) ومن ثم الدورات الثمانية التالية (A/B). وعندما ترمز الوحدات الفرعية KR في الكتلة، كما في كتل دوكسوروبوسين وتتراسيكلين، سوف يعمل KRs بنوعية موضعية وتجسمية. في مسار دوكسوروبوسين، يُعتقد بأن اختزال كيتون C<sub>13</sub> إلى C<sub>13</sub>-OH يحدث قبل التحليق، وربما يكون مهماً لقالب السكان، التحليق الموجه، و/أو التجفاف والتعطير التالي. وكيف تُحمى سلسلة البوليكتيد النامية والمحتوية على أسيل وتُفصل بمجرد نموها على الوحدة الفرعية ACP لم يفهم جيداً ولكن ستكون مهمة لإعادة التصميم المنطقي للتحليق في جهود البناء الحيوي التوافقية للنوع II PKS. وبالإمكان صنع هجين النوع II بوليكتيد بواسطة تبادل قلب وحدات PKS الفرعية والإنزيمات المحلقة (سيكلازات) (انظر خوسلا 1997, Khosla).

### النوع II بوليكتيد سينثازات: خطوط التجميع النمطية لإريثروميسين وتيلوسين

على النقيض من منطق الوحدة الفرعية المنفصل لمعدات النوع II PKS وFAS، النوع I PKS وFAS هما نموذجان، مع العديد من الحقول المحفزة والبروتين الناقل متصلة مع بعضها البعض في داخل الوحدات الفرعية العالية-الوزن-الجزئي. الميكرووليدز من صنف إريثروميسين يحتوي على العضوية -١٤ حلقات ماكرولاكتون في حين أن تيلوسين له ١٦- عضو حلقات (الشكل ١٢.١٥)، وهي تعكس ست وسبع دورات إطالة، بالترتيب. وكان تنظيم النموذج البدئي (prototypic organization) لميكرووليد سينثازات قد كُشف عندما تسلسلت الجينات التي ترمز أجليكون ديوكسي إريثرونوليد بي (aglycone deoxyerythronolide B) (DEB) (كورتيز وآخرون 1990, Cortes et al., دوناديو وآخرون 1991, Donadio et al.) وكشف كذلك عن ثلاثة بوليبيبتيدات في المدى الوزن الجزئي 200-kDa والتي تشكل معاً النشاط المحفز لـ DEB سينثياز (DEBs) محولاً البادئ بروبيونيل - CoA (propionyl-CoA) وجزئيات ٦- ميثيل مالونيل - CoA (6-methylmalonyl-CoA) بواسطة إلى DEB (الشكل ١٢.١٥). أظهر تفنيتش الوحدات الفرعية DEBS1، DEBS2 وDEBS3، أن كل واحدة تحتوي على وحدات (مناطق) (modules) اثنين للإطالة (لست دورات من إضافات ميثيل مالونيل)، على أن يبدأ DEBS1 مع مزيد من تحميل الوحدة النمطية، وأن DEBS3 له حقل TE لإنهاء السلسلة عند نهايتها C (terminus). ووحدة التحميل عند بداية الطرف N (N-terminal) لـ DEBS1 لها AT وحقل HS-ACP لتثبيت وحلة بروبيونيل البادئة كروبيونيل -ACP-S.

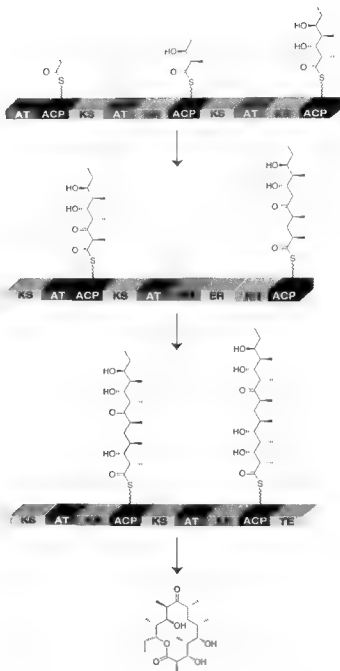
الحقول المركزية في نوع النمط I PKS التي تشغل في إطالة السلسلة هي KS<sub>2</sub>AT وACP، عادة ما توضع في ذلك الترتيب، مع AT الذي يحمل مالونيل أو مجموعة ميثيل مالونيل من مادة acyl-CoA على holo HS-ACP. وفي

DEBS1,2,3، الحقلول AT في الأنماط ١ إلى ٦ هي خاصة لميثيل مالونيل. والموقع النشط KS مسيئين ثيول يؤسل - ذاتياً (يحمض) (self-acylates) مع مجموعة أسيل الماخة، بينما ميثيل مالونيل-ACP-S على ديكر بوكسيليشن هي الكاربون أليف النواة لتكوين  $\beta$ -keto-acyl-S-ACP، نفس المنطق كما رأينا أعلاه للنوع II لتكوينات الرابط C-C. وخلافاً لمنتجات بوليكتيد العطرية الطبيعية، التي تمر بسلسلة من التحليقات (cyclizations) لتكوّن أنظمة- حلقة مندمجة عن طريق مجموعات بوليكتونيك (polyketonic groups) في سلسلة أسيل الكاملة الطول، وربما تختزل مجموعة بيتا-كيتون في كل دورة لنوع PKS I، بواسطة حقول إضافية. وهكذا فالحقول المركزية KS,AT و ACP للنمط PKS ربما تتحد (توصل) بواسطة حقول KR (الأنماط ١ و ٢)، الحقل DH (النمط ٤)، والحقل ER (النمط ٤). وما أن الأنماط ٢ ١ تملك حقول KR، ولكن ليس حقول DH أو ER، فسلسلة أسيل كيتيدالثالية (triketide acyl chain) التي تتراكم على ACP2 من DEBS1 تمتلك سبديلات C<sub>3</sub> و C<sub>5</sub>-OH (الشكل ١٢.١٦).



الشكل (١٢.١٥). التنظيم النمطي لاسيتازات لإريثروميسين وتيلوسين: (A) خط التجميع لإريثروميسين أجليكون-6-DEB، (B) خط التجميع للمضاد-16 أجليكون تيلاكوتون.



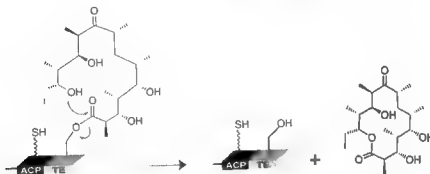


الشكل (١٢، ١٦). سلاسل أسيل متوسطة - الطول التي تتراكم على خط تجميع DEBS.

وتتحرك سلسلة أسيل النامية من DEBSI إلى الوحدة الفرعية DEBS2، تمر على طول الأنماط ٣ و ٤، وتصل إلى محطة الإرساء HS-ACP عند نهاية DEBS2. ويملك النمط ٣ فقط القلب (المركز) KS-AT-ACP، وهكذا يظل الكيتون باقياً، بينما يملك النمط ٤ حقل الثالث DH-ER-KR، وبذلك فبيتا كيتون التي أدخلت حديثاً تختزل

على كل الطريق نحو  $\beta$ -CH<sub>2</sub> وفي DEBS3 النمط ٥ والنمط ٦ كل منهما له حقل KR فقط كحقل اختياري، وهكذا فمرة أخرى تبقى مجموعات  $\beta$ -OH في دورات الإطالة الاثنتين هذه. من الطلب والاستبدال للمحلول الثمانية والعشرين (١٠ في DEBS1، ٩ في DEBS2، ٩ في DEBS3) في خط تجميع الوحدات الفرعية-الثلاث، يمكن لحد التنبؤ بالطول والتوظيف لكل كربون في ١٥-كربون-سلسلة أسيل الآحلقية (15-carbon-long acyclic acyl chain) وأنماط الأمثلة عند C<sub>2,4,6,8,10,12</sub> من مجموعات ميثيل مالونيل الممتدة. الكيمياء التجسيمية لمُسبَدلات هيدروكسي الأربعة تراقب بواسطة الكيمياء التجسيمية لـ KR في الأنماط ١ و ٢ و ٥ و ٦.

المهمة المتبقية لـ DEB سينتياز هي لفصل مجموعة أسيل كاملة - الطول الناضجة والتي رُسيت عند محطة الطريق السابعة و ACP الأكثر طرفية، في النمط ٦. وفقط عند مصب ذلك الـ ACP يوجد الحقل الثامن والعشرون والأخير لخط التجميع، الحقل TE. وهو يعمل كإنزيم مُحلِق (cyclase)، يُحفز القبض بين الجزئي لثيوإستر كربونيل C<sub>1</sub> (thioester carbonyl) بواسطة مجموعة C<sub>13</sub>-OH، منتجاً ١٤-عضو ماكرولاكتون ٦-DEB بمجرد توليد HS-ACP الحر وأن يصبح خط تجميع DEBS تطبيقاً لدورة محفزة أخرى (الشكل ١٧، ١٢). سوف نلاحظ أدناه خطوات الحياكة الإنزيمية الآتية لـ ٦-ديوكسي إريثرونوليد (6-deoxyerythronolide) الحالية من نشاط المضاد الحيوي، لتحويل إلى المضاد الحيوي المؤكسج والكربوهيدراتي (oxygenate and glycosylated antibiotic).

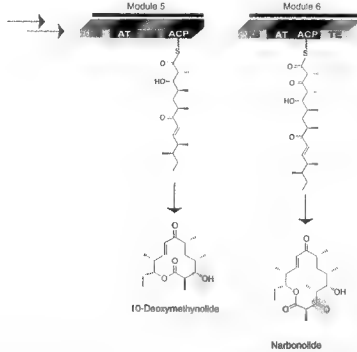


الشكل (١٧، ١٢). إطلاق سلسلة أسيل الناضجة من النمط الأخير بواسطة حقل DEBS3 TE الذي يعمل كمحلّق لينتج ماكرولاكتون 6-DEB.

هناك اهتمام في هندسة خطوط تجميع PKS لينتج حلقات ماكرولاكتون من أحجام مختلفة. في بيكروميسين (pikromycin PKS) (إكزو وشيرمان 2001، Xue and Sherman)، لوحظ إطلاق كل من ١٤-عضو ماكرولاكتون الطبيعي (ناريونوليد) (narbonolide) و ١٢-عضو لاكتون الأقصر (١٠-ديوكسي ميثونوليد) (10-deoxymethynolide) (الشكل ١٨، ١٢)، مما يعكس المنافسة بين التحليق من النمط ٦ (إلى الحلقة ١٤) والتحليق المبكر للسلسلة النامية على النمط ٥ (الحلقة ١٢). والتمييز الإضافي بين الحلقة-١٢ والحلقة-١٤ لاكتونات هي أن النمط الأخير، الذي

يُثبت الكربون ١ و ٢، لا يملك KR وبذلك يترك C<sub>3</sub> كيتا لا تكون غير مختزل الذي يصبح C<sub>3</sub> كيتون في ناربونوليد وفي منتج ١٠-هيدروكسي-٥-ديسوسامينيل (10-hydroxy-5-desosaminyl)، بيكروميسين. وبقاء هذه المجموعة ٣- كيتو يجعل بيكروميسين كيتوليد طبيعي، كمنظرة للميكروليدات واسعة-المدى في التطور السريري (الشكل ١٠،٤). ولا يُعرض بيكروميسين، وبذلك لا يُعرض النمط الظاهري لمقاومة ماكروليد-لينكوساميد-ستربتوجرامين B (الفصل العاشر) (انظر إكزو وشيرمان (Xue and Sherman, 2001)).

وبشكل مماثل، فطفرة الفطر سكاروبوليسبورا إريثري (*Saccharopolyspora erythrae*) وُجد أنها تصنع بعض حلقة منتج العضو-١٦ جنباً إلى جنب مع الحلقة-١٤ ديوكسي إريثرونوليد B في الطفرة. ويعزى دور دورة الإطالة الإضافية إلى النقل البطيء لسلسلة النامية من النمط ٤ إلى النمط ٥، مما يتيح وقتاً لإطالة إضافية على النمط ٤ (ويليكسون وآخرون (Wilkinson et al., 2000)). وإذا كان بالإمكان هندسة مثل هذه التفاعلات الجانبية لتصبح تدفقات رئيسة للمنتجات مازال يتعين تحديده، إدراج نمط PKS من راباميسين سينثاز (rapamycin synthase) إلى داخل DEBS1 لصنع الثلاث - أنماط الوحدة الفرعية الباسطة، يتبعها الإظهار في *S.erythrae* أدى إلى إنتاج أوكتاكتيد (octaketide) مع الحلقة العضوية ١٦-، وإن كان عند كفاءة ٣-٥ % مقارنة بمستويات بوليكتيد الطبيعية من نوع DEBS1-3 البري (روي وآخرون (Rowe et al., 2001)).



الشكل (١٢،١٨). المنافسة على مقاسات حلقة ماكرولاكون المختلفة في عطر جميع بيكروميسين: حلقة-١٦ ناربونوليد وحلقة-١٢ ١٠-ديوكسيميثوليد بواسطة التحليل من النمط ٥ أو من النمط ٦، لاحظ وجود مجموعة C<sub>3</sub>-keto في بيكروميسين.

لاحظ بأنه على النقيض من نوناكتيديل (nonaketidyl-S-ACP) ACP-S وديكاكتيديل (decatetidyl-S-) ACP-S إنزيمات أسيل في تراسيكلين ودوكسوروبيسين سينثازات، حيث تتراكم ثمانية وتسعة كيتونات، غير مختزلة، خلال دورات إطالة السلسلة، يملك DEBS كامل - الطول السباعي هيبتاكتيديل (heptaketidyl-acyl-S-ACP<sub>7</sub>) كيتون واحد فقط، مخفضاً بشكل كبير خيارات إقتران كلينسن (Claisen) ومسارات التحليق العابر الحلقى (transannular cyclization pathways). الحقول الاختيارية KR,DH وER في هذا وغيره من خطوط تجميع PKS النموذجية، التي تعمل في *cis* بطريقة اقتران محكمة، لتعيد مسار مصير سلاسل أسيل نحو التحليل المائي أو macrolactonization (الشكل ١٢،١٧ و ١٢،١٨) بدلاً من تشكيلات حلقة كربون الحلقية (carbocyclic ring).

والنقيض الثاني بين النوع I والنوع II من PKSs هو عدد حقول ACP وأنماط تبديل مكان السلسلة النامية. في النوع II FASs و PKSs، تستعمل وحدة فرعية واحدة من ACP وسلسلة بيتا - كيتو أسيل النامية التي تنتج في كل دورة تكثيف/إطالة، يبدل مكانها ثانية إلى النشط KS الموقع - النشط سيستين لتستعمل كمانح في الدورة التالية (الشكل ١٢،١١).

وسلسلة أسيل النامية هي دائماً على KS الموقع - النشط سيستين ثيول عندما تعمل كمانح لدورة الإطالة التالية و (مبثّل) مالونيل ACP-S هو دائماً الكربون ألف النواة في نزع الكربوكسيل. وفي النوع I PKS النموذجي، يوجد واحد ACP-HS لكل نمط وتنقل السلسلة النامية غير المتجهية من النهاية N- إلى النهاية C- خلال شلال من متواسطات acyl-S-ACP (الشكل ١٢،١٦). ويعمل (مبثّل) مالونيل ACP-S ثانية ككربون ألف النواة تحت KS - المتواسط نزع الكربوكسيل.

#### التعديلات بعد - خط - التجميع: أكسيجينازات الأحادية (monooxygenases)

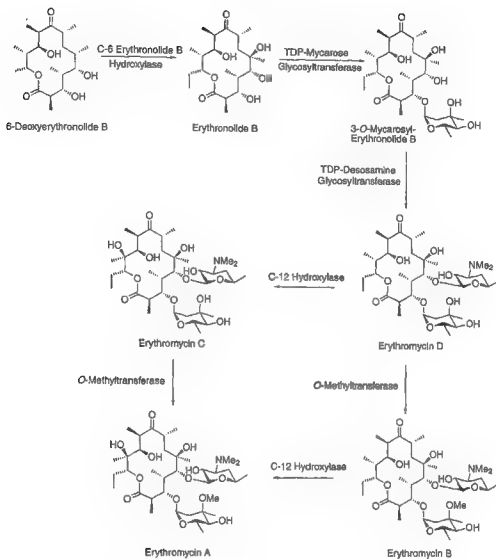
##### وغليكوزيل ترانسفيرازات (glycosyl transferases)

كما لاحظنا في الفصل الرابع، العديد من مضادات ماكروليد الحيوية هي كربوهيدراتية (غليكوزيليتيد) لتوفر تفاعلات رابطة الهيدروجين مع إرياز الريبوسوم 23S rRNA، بواسطة مخالطات سكر ديسوسامين (desosamine sugar) من إريثروميسين إلى A<sub>2025</sub> (الشكل ٤،٥). وفي الحقيقة، فتفاعلات الحياكة بعد - خط - التجميع الأكثر شيوعاً للبوليكيتيدات التي صنعت كل من النوع I والنوع II من PKSs هي الأكسجة، التسكر، وأمثلة الذرات المتفائرة. ولقد لاحظنا الميثلة الثنائية (dimethylation) والأكسجة الثلاثية (trioxygenation) لتنتهي مسار تراسينوميسين (tetracenomycin) في نوع نظم II السابقة الذكر.

في مثيلات (methylations) - بعد - خط - التجميع، يستعمل إس - أدينوسيلميثيونين (S-adenosylmethionine) (SAM) كمادة مشاركة مانعة للميثيل، التي توفر  $\text{CH}_3^+$  متكافئاً للنيتروجين، الأكسجين الليف النواة، أو ذرة كربون (كاربانايون) في منتج بوليكتيد الناشئ. وبعض عمليات مثيلات C (C methylations) عن طريق SAM تحدث بينما السلسلة النامية ما تزال على خط تجميع PKC.

في نضوج 6-DEB إلى إريثروميسين A توجد خمس خطوات إنزيمية: إضافة الهيدروكسيل مرتين عند  $\text{C}_6$  (EryF) و  $\text{C}_{12}$  (EryK)، تفاعلين لغليكوزيلترانسفيرازات التي تركب L- ميكاروز (L-mycarose (EryBIV) عند  $\text{C}_5\text{-OH}$  لماكرولاكتون لينتج ٣-ألفا-ميكاروسيلاريترونوليد B (3- $\alpha$ -mycarosylerythronolide B) ومن ثم D- ديسوسامين D- (desosamine) (EryCII) عند  $\text{C}_5\text{-OH}$  لينتج إريثروميسين D. وأخيراً مثيلة O (O methylation) (EryG) عند  $\text{C}_3\text{-OH}$  لسكر ميكاروسيل (mycarosyl sugar) يكمل البناء الحيوي لإريثروميسين A (الشكل ١٢،١٩) (كاتز 1997, Katz). يعمل EryF هيدروكسيلاز hydroxylase (EryF) على 6-DEB في حين يعمل مونوكسيجيناز EryK (monooxygenase EryK) عند  $\text{C}_{12}$  فقط بعد إضافة كلا السكرين. وكل هيدروكسيلاز يعد عضواً في عائلة سيتوكروم P450 مونوأكسيجيناز المحتوي على-الهيم (مركب البورفورين الحديدي) (heme-containing cytochrome P450 monooxygenase)، نموذجياً للعديد من محفزات أكسجة المضاد الحيوي. والجينات الخمسة أعلاه للإنزيمات الحياكة هذه توجد في مجموعة جين البناء الحيوي لإريثروميسين، المشيرة إلى الوظيفة الأيضية المكرسة لها، وتمكن على التنظيم المنسق. في بيكرومييسين، حيث الموضوع ٣- هو الكيتون، لا يوجد ارتباط بالغليكوزيل عند المكان. ويوجد فقط إنزيمان للنضوج في المجموعة: سيتوكروم P450 PlkK وهو ١٠-هيدروكسيلاز وديسوسامينيل ترانسفيراز desosaminyltransferase (إكزو وشيرمان 2001, Xue and Sherman). وفي الكيتوليدات الأخرى، مجموعة واسعة من كيمياء بعد - التجميع المؤكسدة تتبعها، وتشمل اقتران الحلقة العطرية والفينوليك وعمليات توليد الملح (halogenations).

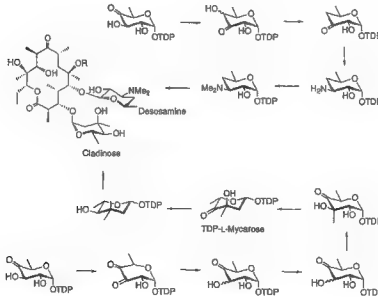
يتطلب وجود السكر على حلقات ماكرولاكتون لنشاط المضاد الحيوي كنتيجة لتوفير محددات رئيسة للربط لتمييز 23S rRNA على الوحدة الفرعية للريبوسوم 50S. وبشكل مماثل، في مسار دونوروبوسين/دوكسوروبوسين، يعد سكر L- دونوسامين (L-daunosamine sugar) (الشكل ١٢،٩) العنصر الأساسي للفعالية الحيوية. وتلتصق السكريات بمضادات البوليكتيد هذه وكذلك بالمضادات الحبري المستندة على - اليبتييد التي شرحت في الفصل التالي التي غالباً ما تكون سكريات ديوكسي و / أو أمين غير عادية والتي توجد فقط كمكونات للمضادات الحيوي (ليو وثورسون 1994, Liu and Thorson). وبدورها، الجينات التي ترمز بنائها الحيوي توجد كذلك متكئة مع بقية البناء الحيوي للمضاد الحيوي وجينات المقاومة مع غليكوزيلترانسفيرازات معين (للمراجعة، انظر ثورسون وآخرون 2001, Thorson et al.).



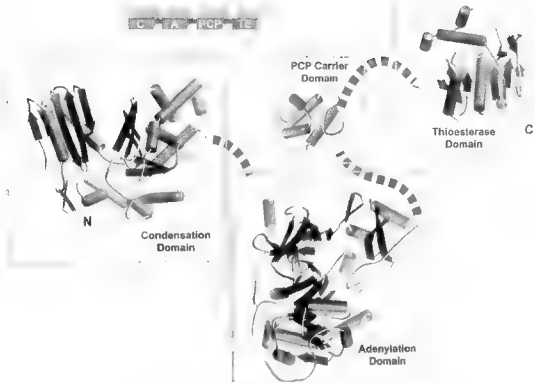
الشكل (١٢، ١٩). الخطوات الإنزيمية الخمس لتحويل 6-DEB إلى إريثروميسين A.

الشكل الفعال بيولوجياً للسكريات التي تُخدم كمادة للإنزيمات غليكوزيل ترانسفيراز هي سكريات نيوليوسيد ثنائية الفسفو (nucleoside diphospho) (NDP)، منشطة عند C<sub>1</sub> بواسطة رابطة NDP (الشكل ١٢، ٢٠) لنقلها إلى بعض المواد المشاركة أيفاً النواة. وفي سكريات NDP<sup>-</sup> للمضاد الحيوي، وتكون النيوكليوسيدات نوعاً بيريميدين TDP (TDP) pyrimidine أو UDP. وهكذا فمسارات البناء الحيوي لسكريات ديوكسي هذه تنتج TDP-L- mycarose أو TDP-D-desosamine، ابتداءً من غلوكوز TDP الذي أُنتج بدوره من المستقبلات الأولية TTP و 1-P- glucose (ثورسون وآخرون 2001, Thorson *et al.*).

الخطوط العريضة لمسارات سكريات ديوكسي هذه هي لتحويل غلوكوز -TDP (TDP-glucose) إلى كيتوغلوكوز-٤-TDP (TDP-4-ketoglucose)، ومن ثم التخلص الماء نحو 4-keto-glucose-6-ene وإنقاص الرابط المزدوج المقترن لتكوين ٤-كيتو-٦-ديوكسي غلوكوز كوسيط شائع ومبكر (الشكل ١٢،٢٠). ومن هذا ٤-كيتو-٦-ديوكسي سكر NDP هناك إنزيمات محددة التي تزامر كل من  $C_3$  و  $C_5$ ، أحدهم يمكن أن يتخلص من OH- عند  $C_3$  لإحداث نقص الأكسدة (deoxygenation) الصافي واختزالاً يؤمن (يصبح مركب أميني) (aminat) عند  $C_3$  أو  $C_4$ . ويتيح التزامر الفوقي (epimerization) لـ  $C_3$  الدخول إلى مجموعة سكر -TDP-L. وبالإمكان أن تحدث الأمثلة لـ N و C عند مواقع كاربانيونيك (carbanionic sites) المجاورة لمجموعة ٤-كيتو. وتنتج الإنقاصات الإنطابقية (chiral reductions) لمجموعات ٤-كيتون سكريات ديوكسي -TDP المنتهية مثل دونوسامين، ديسوسامين، و-L-مايكاروز في الميكروبيدات أو L- فانكوسامين (L-vancosamine) في الفانكوميسين. وعلى سبيل المثال، في -TDP- ديسوسامين (الشكل ١٢،٢٠)، قد تم تحويل  $C_3$ -OH إلى أمين بواسطة (التخفيض الأميني لوسط  $C_3, C_4$  -داي كيتو) (reductive amination of a  $C_3, C_4$ -diketo intermediate) و  $N,N$ -dimethylated بواسطة SAM، ولقد تم اختزال  $C_4$  من الكحول إلى  $CH_2$  واختزال  $C_6$  إلى الحالة  $CH_3$ . لقد تم إنقاص الأكسدة من TDP-L-mycarose (الشكل ١٢،٢٠) عند  $C_2$  و  $C_8$ ، أمثلة -C عند  $C_3$  وتزامرت عند  $C_5$  قبل نقلها إلى سقالة ماكرولاكتون بواسطة EryBIV. وهكذا، توجد آلية إنزيمية واسعة مكرسة لإنتاج تبديلات ديوكسي وأمينو على هيكسوسيز الطبيعي المشتق من الأيض الأولي لعملية ارتباط بالغليكوزيل للبوليكيدات - بعد خط التجميع.



الشكل (١٢،٢٠). الصيغيات لإنتاج TDP-D-desosamine و TDP-L-mycarose من TDP-4-keto-6-deoxyglucose في تجميع إريثروميسين.



الزخارف التركيبية في الحقول المحفزة والحاملة لببتيد سينثازات غير الريبوسومية.

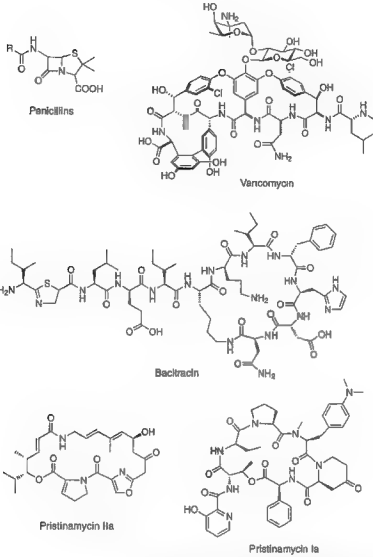


## خطوط التجميع الإنزيمية لمضادات الببتيد الحيوية غير الريبوسومية ENZYMATIC ASSEMBLY LINES FOR NONRIBOSOMAL PEPTIDE ANTIBIOTICS

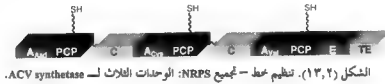
كما لوحظ في الفصول السابقة (الفصول الثالث والسادس والعاشر)، تتيج نسبة كبيرة من منتجات الببتيديك (peptidic) الطبيعية التي لها نشاط المضاد الحيوي بواسطة ببتيد سينثاز غير الريبوسومية (NRPSs) (الشكل ١٣.١) (للمراجعة، انظر كونز وماراهيل 1999، Konz and Marahiel، ماراهيل وآخرون 1997، Marahiel *et al.*، وفون دورين وآخرون 1997، von Dohren *et al.*). وتشمل هذه ACV (إل-أمينو أديبيل-إل-سيسينيل-دي-فالين) و ACV (L-amino acidipyl-L-cysteinyl-D-valine)، طليعة الببتيد الثلاثي لعائلة مضادات بيتا لكتام الحيوية، تيروسيدين وجراميسيدين S (tyrocidine and gramicidin) والمضاد الحيوي الموضعي باستراسين. وبالإضافة إلى أن الغليكوبيبتيدات من مجموعة فانكوميسين تنشأ على خطوط تجميع NRPS، ومن ثم تعدل بشكل كبير، كما لوحظ لاحقاً في هذا الفصل. وبالمثل، مضادات الببتيد الدهنية (ليبوببتيد) الحيوية مثل راموبلانين ودابتوميسين (ramoplanin and daptomycin) تصنع بهذه الطريقة. وأخيراً، بريستناميسينات-ذو-الشقين من معقد سينيرسيد هما هجين للبيبتيد غير الريبوسومي وخطوط-تجميع بوليكتيد سينثاز.

### وحدات الاستهلاك، الإطالة والإنهاء: الحقول الأساسية والحقول الإضافية

تمتلك حفازات NRPS متشابهات تنظيمية مع النوع I بوليكتيد سينثاز (PKSs) كمحفزات متعددة الحقول منظمه إلى وحدات، مع وحدات متعددة تم تجميعها في وحدة بروتين فرعية واحدة أو أكثر. والمثال الأقصى هو الإنزيم الفطري سيكلوسبورين سينثاز (cyclosporine synthetase) الذي يجمع دواء أنديكابتيد الحلقي المثبط لمناعة سيكلوسبورين أ (cyclic undecapeptide immunosuppressant drug cyclosporine A) على عديد الببتيد مفرد ذي الوزن الجزيء 1.5MDa، مع ٤٣ حقول في ١١ وحدة، واحدة لكل حامض أميني التي تم اختيارها، تنشيطها، ودعجها إلى داخل السلسلة النامية. ويمتلك ACV synthetase ثلاث وحدات في عديد الببتيد ذا 450 kDa (الشكل ١٣.٢)، في حين أن سقالة الببتيد السباعي للفانكوميسين أو كلورورموميسين (chloroermomycin) (الشكل ١٣.٢) تجمع بواسطة ثلاث وحدات فرعية مع ثلاثة، ثلاثة، ووحدة واحدة، بالترتيب.



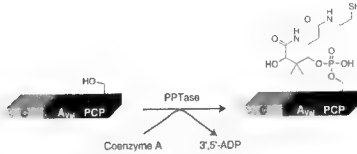
الشكل (١٣،١). أمثلة على المضادات الحيوية التي تُصنع على خطوط - تجميع ببتيد مستثنى عن الريبوسومية.



الشكل (١٣،٢). تنظيم خط - تجميع NRPS: الوحدات الثلاث لـ ACV synthetase.

وكما في خط - تجميع النوع PKS I، خطوط - تجميع NRPS لها وحدة بدء (استهلال) السلسلة عند النهاية N، ومن ثم ترتب وحدات الإطالة ترادفياً قبل وحدة الإنهاء عند نهاية C لخط - تجميع البروتين. الحقول الأساسية لوحدة الإطالة متشابهة مع تلك خطوط - تجميع في النوع PKS I (انظر الفصل الثاني عشر) ولكن تسمى في

وحدات NRPS تكثيف (C)، أدلة (A)، وحقول البروتين حامل بيتيديل (peptidyl carrier protein (PCP)). وكل حقل PCP 8-to-10-kDa مماثل تركيبياً ووظيفياً لحقول ACP (الفصل الثاني عشر)، وتعمل بنفس التعديلات بعد-الانتساخ للسلسلة الجانبية سيرين على HS-pant-holo PCP apo PCP إلى HS-pantetheinylated (phosphopantetheinyltransferase (PPTase) (لامبالوت وآخرون الشريكة المكرسة فوسفوبانتثينيل ترانسفيراز (Lambalot *et al.*, 1996). ويخدم حقل HS-pant-PCP في كل وحدة كموضع إرساء للربط التساهمي للحامض الأميني الموحد الذي سوف يندمج في داخل السلسلة النامية (الشكل ١٣،٣).

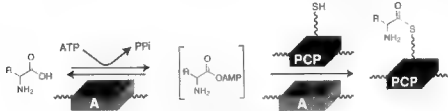


الشكل (١٣،٣). الحقل الأساسية لوحدة إطالة NRPS: C-A-PCP وتحول Apo PCP إلى حقل PCP الكاملة بواسطة عملية فوسفوبانتثينيليشن بعد - الإنتساخية.

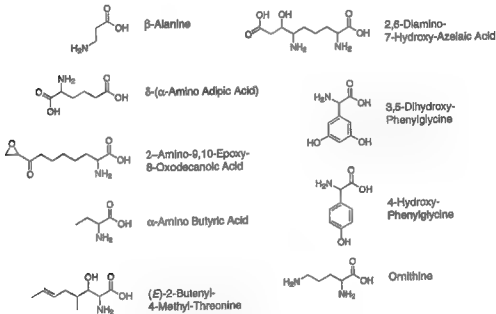
كل حقل A في الوحدة C-A-PCP ينتقي وينشط الحامض الأميني ليربط على HS-PCP المجاور. ويحدث انتقاء الحامض الأميني بواسطة ربط الحقل A في الموقع النشط، والرمز للتمييز قد فُت شفرته بواسطة توليفة تحليل أشعة -إكس على phe- المنشطة لحقل A من جراماسيدين إس سنثيتاز (gramicidin S synthetase)، تحليل المعلوماتية الحيوية لأكثر من ١٥٠ حقل، نشوء الطفرات (mutagenesis) لتغيير الانتقاء (ستاكيلهوس وآخرون Stachelhaus *et al.*, 1999). يحول الحامض الأميني المرتبط إلى أمينو أسيل- AMP بمجرد انفلاق ATP (الشكل ١٣،٤) وإطلاق PP. ويعد تفاعل النصف الأول لحقول A هذه مماثل لتلك لأمينو أسيل- tRNA سينثيتازات التي تنشط الأحماض الأمينية لتكوين رابطة الببتيد المعتمدة على - الريبوسوم، يقترح تحليل أشعة - إكس التطور المتقارب لحقول A وأمينو أسيل - رنا سينثيتازات. وبينما ينقل أمينو أسيل tRNA سينثيتاز مجموعة أمينو أسيل النشطة ديناميكياً وحركياً للربط مع tRNAs المشابهة، تنقل حقول A مجموعة أمينو أسيل إلى حقل HS-pant-PCP لتوليد aminoacyl-S-PCP في كل وحدة (الشكل ١٣،٤).

الخصوصية (النوعية) لحقول A وترتيبها واستبدالها في وحدات خط التجميع NRPS تزود الإرشادات لبناء الببتيد في القالب ثيو (thiotemplated). وعلى النقيض من ببتيد سنثيتاز الريبوسومي، حيث ينشط جمع أمينو أسيل-

tRNA سيثيتيسز الخلوي فقط ٢٠ من الأحماض الأمينية المولدة للبوتتين، تم العثور على أكثر من ١٠٠ حمض أميني في منتجات الببتيد الطبيعية غير الريبوسومية، مشيراً إلى التنوع الكبير في تمييز موحود الحمض الأميني، ويشمل تنشيط الحمض الأمينية  $\beta$ - $\gamma$ ، مثل بيتا-الالانين ( $\beta$ -alanine)،  $\gamma$ -امينوبوتائريت ( $\gamma$ -aminobutyrate) و- $\delta$  أمينوأديبيت ( $\delta$ -aminoadipate) (كونز وماراهيل، ١٩٩٩، (الشكل ١٣،٥).



الشكل (١٣،٤). محتويين من تخليز أدلة حقل NRPS: انقضاء وتنشيط الحمض الأميني كأمينو أسيل-AMP (aminoacyl-AMP) بحكم الربط، لكل مجموعة أمينو أسيل لتوليد وسيط aminoacyl-S-PCP المكافئ.



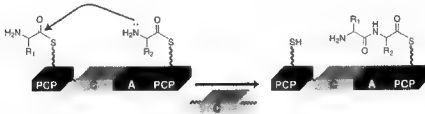
الشكل (١٣،٥). أمثلة للأحماض الأمينية غير المولدة للبوتتين متقاة لدمج السلسلة بواسطة حقول A.NRPS.

والثالثة من الحقول الأساسية في وحدة إطالة NRPS، الحقول C، هي حفازات تكثيف لتكوين رابطة-الببتيد، التي تستعمل المنتج الفوري ببتيديل -S-PCP بين الوحدة (intermolecular peptidyl-S-PCP) كمانح لسلسلة أسيل

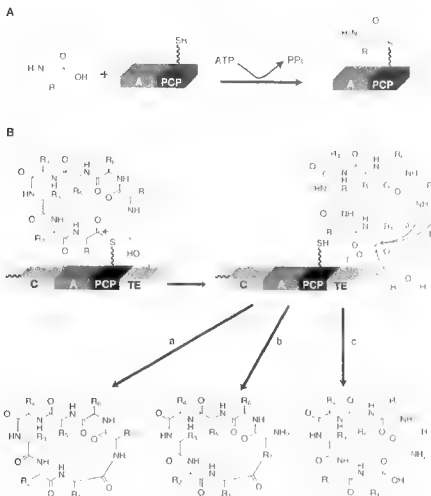
وأمينو أسيل - PCP-S داخل الوحدة (intramodular aminoacyl-S-PCP) كقابل ألفا النواة (الشكل ١٣,٦) من خلال مجموعة أمينو الحرة. وتشكيل رابطة بيتيد أحادي الاتجاه وتحرك سلسلة بيتيد النامية من المنبع إلى حقل المصب HS-PCP. الحقل C مشابه وظيفياً لحقل كيتوسيناز (ketosynthase) في خطوط تجميع النوع I PKS، ولكن، بدلاً من صنع الروابط -C-C، يصنع اتصال C-N في تكوين رابطة البيتيد.

تميل وحدات إطالة السلسلة لأن تفتقر لحقل C وبدلاً من ذلك تمتلك تركيب حقل -اثين A-PCP لتنشط وتحمّل الحمض الأميني الأول فوق حقل HS-PCP الأول (الشكل ١٣,٧ A)، كما مثل في ACV synthetase المشروحة أدناه. وتملك وحدات إنهاء السلسلة التركيب العام C-A-PCP-TE، حيث النهاية -C لحقل ثيوإستيراز (thioesterase domain) (TE) لها نفس الدور كما في خطوط -تجميع النوع I PKS، لفصل رابطة ثيوإستر التساهمية بين سلسلة بيتيد - كاملة الطول وحقل PCP أقصى المنبع. ومثل خطوط -تجميع PKS، بإمكان حقل NRPS TE كحفازات حالة مائية أو حفازات تخليق ضخمة (macrocyclization) (الشكل ١٣,٧ B) (تروجر وآخرون 2000, Trauger *et al.*).

وبالإضافة إلى حقول C-A-PCP الأساسية في وحدات NRPS ربما تجري خطوط -تجميع خاصة خطوات كيميائية إضافية أثناء إطالة السلسلة وتوضع حقول إضافية في هذه الوحدات حيث يحدث حياة كيميائية للسلسلة النامية. وعلى سبيل المثال، يملك انديكايبتيد (undecapeptide) الحلقي سيكلوسبورين A المثبط للعناعة مجموعات N-methyl فوق سبعة من روابط البيتيد، وتوجد سبعة حقول S-ادينوسيل ميثيونين (S-adenosylmethionine) -تستعمل -N- ميثيل ترانسفيراز (N-methyltransferase) المطمورة في الوحدات السبعة لخط -تجميع سيكلوسبورين سنثياز (فون دورين وآخرون 1997, von Dohren *et al.*). وسوف نلاحظ أدناه حقول التقسيم الفوقي (epimerization) في خطوط -تجميع ACV، فانكوميسين، وتيروسيدين (tyrocidine) وحقول التحليق المتغاير (heterocyclization) في الوحدة الثانية من باستراسين سنثياز كحقول حياة إضافية وضعت في *cis* في خطوط -التجميع.



الشكل (١٣,٦). عمل حقل C في تحفيز NRPS: تشكيل رابطة البيتيد والإطالة عن طريق نقل سلسلة بيتيد إلى مصب الحقل PCP.



الشكل (١٣،٧). (A) الحقلين - PCP لوحدة سلسلة الإطالة، (B) الأربعة حقول C-A-PCP-TE لوحدة إنهاء السلسلة ولثلاث مسارات مختلفة لإنهاء السلسلة.

خطوط - التجميع لـ ACV، ببتيدات الفانكوميسين السباعية، تيوسيدين، وباستراسين:

التزامر، التحليق الضخم، والتحليق المتغاير

الإنزيم الذي يجمع طليعة الببتيد الثلاثي الآحلي (الآدوري) لأنواع البنسيين والكيالوسبورين في أكرمونيوم كريسوجينم (*Acremonium chrysogenum*)، الكائن المنتج للبيتالكمام، هو عديد الببتيد-المفرد (single-NRPS polypeptide). وكما هو مبين في الشكل (١٣،٢)، يملك ACV ستيئات ١٠ حقول في بروتين 450kDa يقوم بتجميع قالب ثيو (thiotemplated) من ACV. توجد ثلاثة أحماض أمينية التي يتعين انتقالها وتنشيطها كأمينو أسيل - AMPs وهكذا يوجد ثلاثة حقول A، ب، Aad، Acyc، Aval، رتبت بهذا النظام في وحدات الإنزيم الثلاث. كما

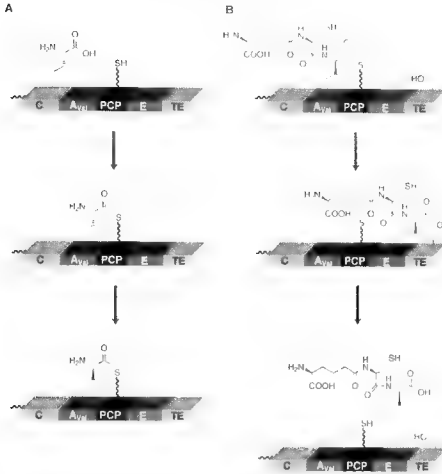
يوجد ثلاثة حقول  $HS-PCP$ ،  $holo$ ، أنشأت بواسطة فوسفوترايببتيديلشين بعد الانتساخي من  $apo$   $PCPs$ ، للربط التساهمي كأمينوإدييل- $S-PCP_1$  ( $aminoadeipyl-S-PCP_1$ )، سيستينيل- $S-PCP_2$  ( $cysteinyI-S-PCP_2$ ) وفاليل- $S-PCP_3$  ( $valyl-S-PCP_3$ ). وتشكل ٢ رابطة ببتيدي، الأولى بين أمينو إدييت وسيستين والخفازة بواسطة الحقل C في الوحدة ٢، والثانية بين  $Aad-Cys-S-PCP_2$  كمانح و  $Val-S-PCP_3$  كمستقبل، بواسطة الحقل C في الوحدة ٣، مولداً إنزيم-إس-ببتيديل الثلاثي ( $tripeptidyl-S-enzyme$ ) المرسى عند  $PCP$ . وهذا مشمول عن ثمانية من ١٠ حقول.

والحقل التاسع هو حقل التزامر (E) في الوحدة ٣، حيث يستطيع تزامر  $L-Val-S-PCP_3$  نحو  $D-Val-S-PCP_3$ . ويمر لتزامر خلال  $Ca$ -كاربانيون ( $Ca-carbanion$ ) الحفلي المرسخ-البرنين ويسمح بدخول هذه بسهولة أكثر في فاليل-ثيوإستر ( $valyl-thioester$ )،  $Val-S-PCP_3$ ، ومن ثم في فالين الحر. وهو من غير الواضح إلى الآن إذا ما كانت فضالة فاليل تزامر نحو خليط  $D,L$  قبل أو بعد التكتيف (مثل  $L,L,L-tripeptidyl-S-PCP$ ). وإذا حدث ذلك قبل، فمن ثم الحقل C في الوحدة ٣ يجب أن يكون نوعياً (خاصاً) للمستقبل  $Val-S-PCP_3$ . وإذا أثر التزامر على  $tripeptidyl-S-PCP_3$  بعد التكتيف، بعدها الحقل TE ربما يكون خاصاً بـ D ( $D-specific$ ) (الشكل ١٣،٨ A). الحقل العاشر والأقصى نهاية-C، الحقل TE، يعمل في خط-التجميع هذا كإنزيم مذوب (hydrolase) بسيط. وحقل TE هو عضو من عائلة ضخمة من الإنزيمات المذوية-ألفا-بيتا ( $\alpha/\beta$ -hydrolases) ذات الموقع النشط سيرين. وتستعمل الموقع النشط للسلسلة الجانبية Ser كآليف النواة لهاجم ترايببتيديل ثيو إستر وينقل السلسلة ليصنع الإنزيم الوسيط  $tripeptidyl-O-Ser-TE$  (الشكل ١٣،٨ B).

وهذا النوع الذي بعد ذلك يتحلل مائياً في خطوة نزع الأسيل التي تحرر خط التجميع NRPS لدورة التحفيز التالية، مطلقاً  $L,L,D-tripeptide-COOH$ . وهكذا فمنطق وترتيب الحقول العشرة في ACV سنيتاز واضح وبين (التغيير) الطبع في عملية تجميع سلسلة قالب ثيوپبتيديل.

وتجدر الإشارة إلى خاصيتين من انتقاء الحمض الأميني في استعمال ACV سينثيتيسز لأمينو إدييت. فهو ليس فقط حامض أميني غير مولد للبروتين وكذلك فإن حقل A في الوحدة ١ والخاصة بـ Aad، تنشط  $C_6-COOH$ ، وليس  $C_1-COOH$ . في أمينوإدييت في هيئة أسيل-AMP.

وهكذا فوسط رابطة أميد في  $Aad-Cys-S-PCP_2$  المشكل بواسطة الحقل C للوحدة ٢ هو رابطة ببتيدي متساوية ( $isopeptide bond$ ) تُحمل إلى الأمام للببتيد الثلاثي المحرر. في القسم التالي من هذا الفصل سوف ننعطف إلى الحياكة الإنزيمية بعد-خط-التجميع لتحويل acyclic ACV نحو نظام الأربع/الخمس حلقات بنسيلينات المندجة.



الشكل (١٣،٨). وظيفة الحقل في خط -تجميع ACV synthetase: (A) عمل الحقل E لصنع D-Val-S-PCP، (B) إنهاء السلسلة بواسطة الحقل TE من خلال وسيط إنزيم tripeptidyl-O-Ser-TE acyl.

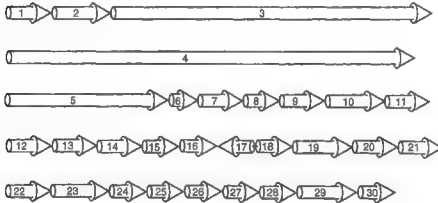
#### التجميع الإنزيمي للبتيد السباعي للفانكوميسين وكلوروراموميسين (chloroermomycin)

للفانكوميسين وكلوروراموميسين هيكل بيتيد سباعي ذا ربط-تبادلي مشابه. وكتلة جين البناء الحيوي لكلوروراموميسين، ولكن ليست بعد للفانكوميسين، قد وُجد أنها تحتوي على كتلة من بعض ٣٠ جين (فان واجينجين وآخرون (van Wageningen *et al.*, 1998) (الشكل ١٣،٩). والجدير بالذكر في هذه الكتلة ثلاثة أطر قراءة مفتوحة كبيرة جداً، 4 إلى 6 ORFs، التي ترمز الوحدات الفرعية الثلاث CepA، CepB، وCepC من NRPS heptapeptide synthetase. ومعاينة ترتيب الحقل المفترض من التحليل المعامومية الحيوي (الشكل ١٣،١٠) يظهر ٢٤ حقل موزعة فوق الثلاث وحدات الفرعية، مع الوحدات التي تحتوي على CepA ١ إلى ٣، الوحدات CepB ٤ إلى ٦، والوحدة السابعة CepC. والمنطق المستعمل لـ ACV ترايببتيد سنثيتاز هو قابل للانتقال لخط -تجميع NRPS هذا. وسبعة



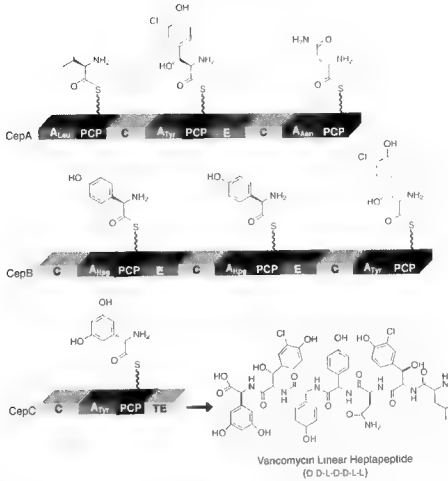
أحماض أمينية في الببتيد السباعي تلزم حقول سبعة A وسبعة حقول PCP مقترنة بالشكل HS-pantetheinyl holo لتكون وظيفية. وتوجد ستة روابط ببتيد لتصنع و ٦ حقول. كما توجد أربعة أحماض أمينية-دي (D-amino acids) في الآحلفي السباعي (D,D,L,D,D,L,L-acyclic heptamer). وتوجد حقول التزامر في الوحدات ٢، ٤، و ٥ ولكن ليس في الوحدة ١. وأخيراً، هيكل الببتيد السباعي في المنتج الطبيعي هو الحامض الحر وحقل TE يفترض بأن يكون الإنزيم المذوب لببتيد السباعي - S-PCP<sub>7</sub> (heptapeptidyl-S-PCP<sub>7</sub> hydrolase). ومصدر D-Leu عند الفضالة الولي مازال غير معروف، ولكن الحقل A يستطيع أن ينشط كل من L-Leu و D-Leu ويفرس D-Leu على HS-PCP المجاور من الوحدة ١ (تروجر والاش 2000, Trauger and Walsh).

وإذا كان الحقل C للوحدة ٢ هو D-specific خاص للمناع Leu<sub>1</sub>، بعد ذلك يمكن حل المسألة. وفترضياً الحقل C في الوحدة ٣ هو خاص للمناع D-D-dipeptidyl ولكنه مستقبل L-Asn-S-PCP<sub>3</sub>، بينما حقل C في الوحدة ٥ سوف يفترض بأنه يميز مانع الإنزيم D-D,L,D-tetrapeptidyl-S-enzyme ومستقبل D-4-OH-pheGly-S-PCP. والنوعية شيرال (chiral specificity) لحقول C لم يتم بعد التحقق من صحتها تجريبياً.



Function	ORF	Function	ORF
Nonribosomal Peptide Synthetase	3-5	HPG Synthesis	1, 17, 21, 22
Oxidative Crosslinking	7-9	DHPG Synthesis	27-30
N-Methylation	16	β-OH Tyr Synthesis	18-20
Halogenation	10	Transport	2
Glycosyl Transfer	11-13	Regulation	6
Sugar Synthesis	14, 23-26	Eplimerase	15

الشكل (٩، ١٣). ثلاثون جينات مجتمعة للبناء الحيوي لكلوروزوموسين.



الشكل (١٣،١٠). ٢٤ حقل، سبعة خطوط لجميع الوحدة للعمود الفقري للبتيد السباعي لكلوروزاموسين أو فانكوميسين ستيناز.

والخاصية الأخيرة الجديرة بالذكر في خط تجميع الببتيد السباعي هذا هي استعمال إثنين من موحودات الحمض الأميني الغير مولد للبروتين، عند ٤ و ٥ و 3,5-(OH)<sub>2</sub>-pheGly عند الموضع ٧. وجميع سلاسل أريل الجانبية - الغنية بالإلكترون تشارك في تفاعلات الربط - التصالي لما - بعد - خط - تجميع NRPS، سيتم شرحها أدناه. يُصنع 4-OH-pheGly وموحودات 3,5-(OH)<sub>2</sub>-pheGly بواسطة الإنزيمات التي ترمز كذلك في كتلة البناء الحيوي (الشكل ١٣،٩). تؤدي أربعة مسارات - إنزيم من كوريسميت (chorismate) عن طريق بارا-هيدروكسيفينيل بيروفيت (*para*-hydroxyphenylpyruvate) وبارا-هيدروكسيماندليت (*para*-hydroxymandelate) إلى 4-OH-pheGly (ORFs 1,17,21,22)، بينما 3,5-dihydroxy isomer تشتق بدلا من ذلك ومن النوع III PKS يتبعها الثلاث إنزيمات من عائلة كروتوناز (crotonase) الضخمة (ORFs 27 to 30) في الشكل ١٣،٩)،

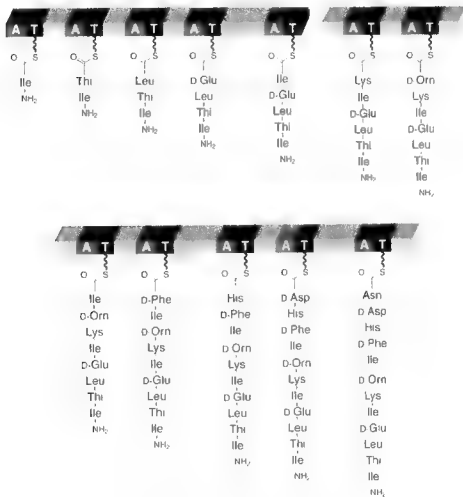
مستعملة أسيل - CoAs في تكتيفات كلايزن التكرارية (iterative Claisen condensations) لبناء الحمض الأميني - ذي الثمانية كربون المندمج عند الفضالة ٧ (تشين وآخرون 2002, Chen *et al.*). وهذه الثمانية ORFs تؤكد على تنسيق التنظيم والالتزام لإنتاج موحودات الحمض الأميني غير المولدة للبروتين في قاعدة - في الوقت المحدد وتصادق على تقلبات (تعددات) NRPS لحقول A لتدخل التغيرات في خطوط - تجميع الببتيد في قالب ثيو.

عطوط تجميع باسراسين وتيوسيدين: التحليقات الضخمة (macrocyclizations) بواسطة حقول TE

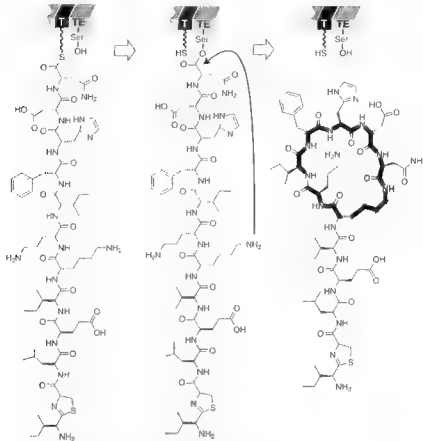
تتألف خطوط تجميع تيوسيدين سينثاز وباسراسين سينثاز من العصية بريفيس (*Bacillus brevis*) والعصية ليكنيفورميس (*Bacillus licheniformis*)، بالترتيب (الشكل ١٣، ١١)، من ثلاث وحدات فرعية التي تحتوي على ١٠ و ١٢ وحدة، بالترتيب، لمضادات ديكا - ودوديكا ببتيد الحيوية (deca-and dodecapeptide antibiotics). وكلاهما يبتيدات حلقة متصلة بتخليق الناحية الكيميائية (regiochemistry) المختلف. وتيوسيدين حلقي من الرأس إلى الذيل، ومجموعة أمينون D-phe<sub>1</sub> تهاجم كربونيل - Leu<sub>10</sub> carbonyl) لتتصنع الأميد الحلقي (انظر تروجر وآخرون 2000, Trauger *et al.*), ولكن باسراسين قد تم تحليقه ليعطي تركيب أولى طويل مع سلسلة جانبية مجموعة أمينون من Lys<sub>7</sub> التي تهاجم كربونيل من فضالة النهاية Asn<sub>12</sub> (الشكل ١٣، ١٢). التحليقات المتميزة تحفز بواسطة حقول TE عند نهاية خطوط -تجميع NRPS هذه، تعمل كإنزيمات مُحلقة ماكرولاكتاميزنج سيكلازات (macrolactamizing cyclases) بدلاً من الإنزيمات الحالة (hydrolases). يجب أن تُحجز (تفصل) وسائط acyl-O-TE حركياً من الماء وتطوى في داخل هيئة - نشطة - الموقع بحيث إن روابط إستر Leu<sub>10</sub>-COO-TE و Asn<sub>12</sub>-COO-TE يمكن أسرها بين الجزئيات بواسطة أمين أليفات النواة في سلاسل ببتيديل. وفي حالة تيوسيدين سنثيتاز، فقد ثبت بأن حقل TE يملك جميع المعلومات الضرورية لتحريض ثني (طي) السلسلة والتحليق بما أن حقل TE المستأصل يحتفظ تلقائياً بالكفاءة المحفزة لتحليق ديكاببتيديل - ثيواستر وعندما يعرض مع استبدال دي- فينيل أكتيل (D-phenylactyl) عند D-phe<sub>1</sub>، سوف تُنتج الماكرولاكتون. الفرق بين التحليل بالماء (hydrolyzing) والتحليق (cyclizing) لحقول TE في النوع I PKS وفي خطوط - تجميع NRPS ليس واضحاً بعد ولكن ستكون ذات أهمية في الأساليب التوافقية نحو التحليقات الضخمة.

إضافة إلى نوع تركيب ماكرولاكتام الوهق الخاص به، يملك باسراسين خاصية تركيبية إضافية جديرة بالذكر: الفضالات ١ و ٢، يتم تحويلها إلى خمس-حلقات داي هيدروثيازول (five-ring dihydrothiazole)، ثيازولين (thiazoline)، أثناء خطوة إطالة السلسلة في الوحدة ٢ (الشكل ١٣، ١٣). وتحليل حقل التكتيف في الوحدة ٢ لباسراسين سنثيتاز يكشف أن بديل (متغير) وعضو من العائلة الفرعية لحقل التحليق (Cy) (كياتنج ووالش Keating and Walsh, 2001). وبالإضافة إلى التصرف كحقل C نموذجي ومحفزاً لتكوين رابطة أميد، فحقول Cy هذه، توجد

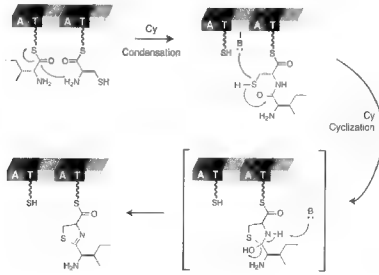
كذلك في بليوميسين سنتيناز (bleomycin synthetase) (انظر دو وآخرون 2001، Du *et al.*)، وتخضع أولاً لتحليق السلسلة الجانبية ثيوليت (thiolate side chain) من سيستين فوق رابطة الببتيد كاربونيل التي فقط الانتهاء من تشكيلها ومن ثم التخفاف لتوليد رابطة أمين الحلقية المزدوجة (cyclic imine double bond) ويعتمد توازن التحليق إلى حلقة ثيازوليون. هذا التعديل يغير الربط لسلسلة أسيل. وكذلك، فحلقة ثيازوليون تعدّ مستخلّب (chelator) أيون معدني ثنائي التكافؤ جيد، التي يعتقد بأن تكون ذات صلة مع التنسيق المتواسط بـ  $Mg^{2+}$  الخاص بأنديكابرينيل فوسفيت (undecaprenyl phosphate) في عمله المضاد الحيوي (الفصل الثالث).



الشكل (١١، ١٣). مخطط تجميع NRPS لتيروسيلدين مستطاز.



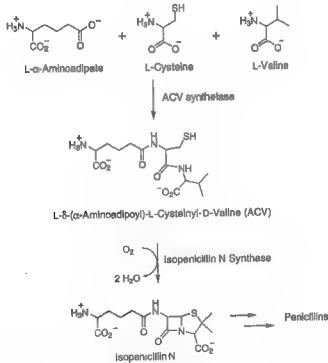
الشكل (١٢، ١٣). إطلاق سلسلة بامتراسين بواسطة ماكروليكتاميزيشن بين الجزئين بواسطة حقل TE لبامتراسين سينثياز: لصنع رابطة بينهد المتساوية لـ  $Lys-Asn_{12}$ .



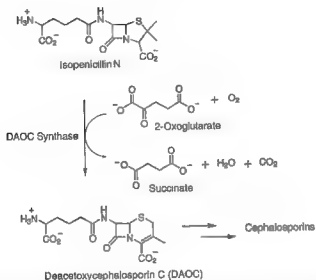
الشكل (١٣، ١٤). عمل حقل التحليل لبامتراسين سينثياز لإنشاء حلقة بازوليدين من  $Cys_1-Lys_{12}$ .

علم الإنزيمات بعد - - خط تجميع ACV: ACV إلى بنسيلات إلى كيفالوسبورينات - مقارنة مع البناء الحيوي لكارباينيم و كلافلينيت.

يحفز التحويل الإنزيمي للبيبتيد الثلاثي ACV الأحلقي إلى تركيب بيتا لكتام ثنائي الحلقة من البسيلات بواسطة إنزيم  $Fe^{11}$  واحد غير محتو على الهيم (nonheme)، أيزونيسيلين N سينثاز (isopenicillin N synthase) (IPNS) الذي يختزل المادة المشاركة  $O_2$  بواسطة أربعة إلكترونات إلى جزيئين من الماء (الشكل ١٣، ١٤). وبدوره فحلقة بيتا لكتام تمتد من ثيازوليدين ذي الخمس - حلقات (five-ring thiazolidine) إلى حلقة ثنائي هيدروثيازولين ذات الست - حلقات (six-ring dihydrothiazine ring) لمضادات كيفالوسبورين الحيوية، مرة أخرى بواسطة إنزيم غير المحتوي على الهيم  $Fe^{11}$  داياوكسيجينيز ( $Fe^{11}$  dioxygenase) (الشكل ١٣، ١٥) التي تعمل بعد أن يحول إبيميراز (epimerase) أيزونيسيلين N (isopenicillin N) إلى pencillin N بواسطة توازن مركز  $C_2$  aminoadipyl L- مع الخليط - D-L. ويعرف إنزيم إكسبانداز كذلك بديكتوكسي كيفالوسبورين سي سينثاز (deacetoxycephalosporin C synthase) (DAOCS)، يعمل فقط على د-أمينو اديبيل-بنسيلين (D-aminoadipyl-pencillin)، ويتطلب جزيء من ألفا-كيتوجلوتاريت ( $\alpha$ -ketoglutarate) كمادة مشاركة و وينزع الكربوكسيل إلى سكسينيت (succinate) و  $CO_2$  بينما يُختزل  $O_2$  إلى  $H_2O$  وذرة الأكسجين الثانية تدمج في داخل سكسينيت كربوكسيل.



الشكل (١٣، ١٤). التحليل المزدوج لـ ACV إلى هيكل بيتا لكتام البنسيلات بواسطة أيزونيسيلين إن سينثاز.



الشكل (١٣، ١٥). تمثيل حلقات الببتيدات الخمس إلى ست حلقات للكيفالوسبورينات بواسطة إكسبانداز (deacetoxycephalosporin (expandase) (C synthase).

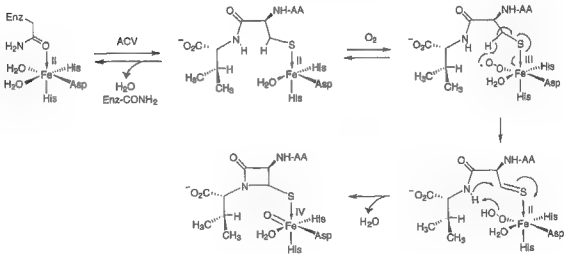
ولقد تم حل تراكيب أشعة-إكس لكل من IPNS، من الرشاشية نيدولانس (*Aspergillus nidulans*) (روتش وآخرون 1997، Roach *et al.*) (الشكل ١٣، ١٦)، و daocs من المتسلسلة كلافوجيريس (فاليارد وآخرون Valegard *et al.*, 1998)، وكشف أن الإنزيمين هما أعضاء من العائلة الكبيرة (الشكل ١٣، ١٧) دايأكسيجينازات حديد فروز (ثنائي التكافؤ) غير المحتوي على الهيم (nonheme ferrous iron dioxygenases). ويستعملوا His ٢ واحد كاربوكسيلات (Asp/Glu) كبريطات للهيكل (انظر كيو 2000، Que) لـ Fe<sup>II</sup>، كما يعمل الإنزيم الثالث في استقلاب بيتالكتا المؤكسد، كلافامينيت سينثاز (CAS) (clavaminat synthase) (Zang *et al.*, 2000)، المذكور لاحقاً.

بينما يظهر DAOCs و CAS ألفا-كيتو ديوكسيجيناز نازع كربوكسيل-الحمض ( $\alpha$ -keto acid-decarboxylating dioxygenase) النموذجي قياس العناصر (stoichiometry) من هيكل الموقع - النشاط لحديد الفروز الشائع هذا، يتشعب (يحيد) IPNS بحيث لا يتطلب المادة المشاركة ألفا-كيتو الحامضية وبواسطة عدد الإلكترونات التي تمت إزالتها من المادة. يؤكد IPNS، ACV بواسطة أربعة إلكترونات كلما أنشأ نظام الأربع/الخمس حلقات المندمج لهيكل البنسيلين، يعمل كل الإلكترونات الأربعة في شكل قمع (funneling) نحو O<sub>2</sub> عندما يمتزج إلى جزئين من H<sub>2</sub>O. وعلى التقيض، يعمل DAOCs و CAS اثنين أكسدة إلكترونات للمادة المرتبطة في كل دورة تحفيزية. ومن الواضح بأن نفس المنصة (البرنامج) المعمارية لحديد الفروز يمكن توجيهها نحو الكيمياء المتنوعة ولكن الانتقائية المستندة - على الأكسجين بواسطة ربط المادة القابلة للأكسدة. ويعتقد بأن جميع الإنزيمات الثلاث تولد أنواع فريل Fe<sup>IV</sup>=O ferryl باعتبارها مفتاح أكسدة لدورة - أكسدة الإلكترونين (two-electron redox cycle). ويولد DAOCs

و CAS مؤكسد فرييل من عملية نزع الكربوكسيل المؤكسدة من ألفا-كيتوغلوتارات المرتبط، في حين يعتقد بان IPNS يولد المؤكسد  $Fe^{IV}=O$  بواسطة أكسدة - اثنين إلكترونات من ACV بمجرد أن يتم تحليقه، مع تكوين رابط C-N، لوسيط بيتا لكتام الأحادي الحلقة المنسق - بالحديد (iron-coordinated monocyclic  $\beta$ - lactam intermediate) (الشكل ١٣، ١٧) (روتش وآخرون 1997, Roach *et al.*).



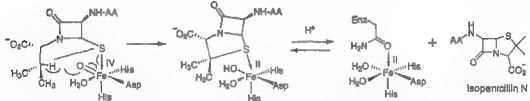
الشكل (١٣، ١٧). تركيب أشعة - إكس لـ IPNS مع الحديد الموقع - النشط والمادة المرتبطة ACV.



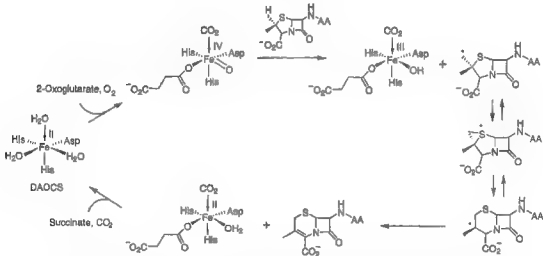
الشكل (١٣، ١٧). الآليات المقترحة لتكوين الحلقة الأولى (بيتا لكتام) بواسطة IPNS.



النصف الثاني من تفاعل IPNS هو أكسدة - اثنين إلكترون جي/تخليق (two-electron oxidation G/cyclization) للاكتمال الأحادي المنسق - ثيول نحو حلقة ثيازوليدين مع تكوين رابطة  $Sc_{\beta}$  إلى  $C\beta_{val}$  بواسطة خطوتين واحد- إلكترون (الشكل ١٣، ١٨) واختزال اثنين - إلكترون الملازم لـ  $Fe^{IV} = O$  عودة إلى  $Fe^{II} \cdot OH$ ، وبشكل مماثل، فتمديد الحلقة بواسطة الإنزيم إكسباندين DAOCS expandase يستخدم  $Fe^{IV} = O$  لكسر رابطة  $S-C\beta$  في الثيازوليدين ومن ثم يعيد إغلاق الكبريت الجذري (sulfur radical) فوق  $CH_2$  الجذري المشتق من تجريد ذرة الهيدروجين من أحد مجموعات بروشيرال-بيتا ميثيل (prochiral  $\beta$ -methyl groups). وذلك يمد (يوسع) الحلقة من خمسة إلى ستة ويولد أولفين الداخلي الحلقة (endocyclic olefin) (الشكل ١٣، ١٩) بمجرد إعادة توليد القاعدة الأساسية  $Fe^{II}$ . ويحتمل بأن فعالية أنواع حديد  $Fe^{II} oxo$  عدلت بواسطة نهج مادة القيود الهندسية في كل موقع نشط وربما كذلك بواسطة التغيرات المحكّمة في مجال تنسيق الحديد عند نقاط مختلفة في هذه الدورات الحفّازة المعقدة.



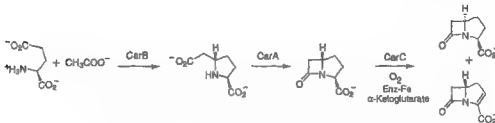
الشكل (١٣، ١٨). تكوين الحلقة الثانية من البسيسيلات بواسطة IPNS مع اختزال وسيط فيريل (ferry intermediate).



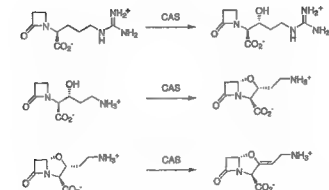
الشكل (١٣، ١٩). تمديد الحلقة بواسطة DAOCS مع اختزال وسيط فيريل.

الكاربامينيمات وهيكل أوكسوبينام (oxopenam) من الكلافولينيت يُحضرا بواسطة إستراتيجية إنزيمية مختلفة. ولا يشتقا من منتجات البيثيد غير الريبوسومية. وفي الواقع، ينتج 2-em-3-carboxylate 5R-carba- البسيط بواسطة

إرونيثا كاروتوفورا و سيريشيا مارسيسينز (*Serratia marcescens*) المجمعة من acetyl-CoA والحمض الأميني غلوتامات بواسطة كتلة ثلاثة- إنزيمات للبناء الحيوي، CarA-C (الشكل ١٣،٢٠) (لي وآخرون 2000، Li *et al.*). والحلقة الخامسة تُصطنع أولاً، بواسطة CarB إلى ٢-كربوكسيثيل بروبيل (2-carboxymethyl proline). وينشط الكاربوكسيلات بواسطة CarA، البيتا لكتام سينثاز ( $\beta$ -lactam synthetase) في التفاعل الذي يصنع وسيط acyl-AMP على السلسلة الجانبية  $\text{CH}_2\text{-COOH}$  ومن ثم يستعمل الأمين للإزاحة البين الجزئية لـ AMP بمجرد تكوين لكتام ذا الأربع أعضاء (بايمان وآخرون 1998، Bachmann *et al.*). ووسيط كارباميت هذا غير مشبع بطريقة مؤكسدة بواسطة CarC والرسم البياني ٤/٥ رأس الجسر المتزامن ليولد المنتج الطبيعي. ولـ CarA و CarB منازفات في مسار البناء الحيوي لكلافلينيت (الشكل ١٣،٢١) حيث إن الحمض الأميني أرجينين (arginine) والمستقلب الأولي دي-جليسرالدهيد-٣ فوسفيت (D-glyceraldehyde-3-phosphate) والخطوة الأولى هي ثيامين-بيروفوسفيت المعتمد على التولي الإنزيمي (thiamine-pyrophosphate dependent enzymatic generation) لكاربوكسيل أرجينين (carboxyethylarginine)، التحويل غير العادي للغاية، الذي يشمل التحكم الداخلي للأكسدة والتخلص (من  $\text{P}_i$ ) وإضافة مجموعة أرجينين ألفا-  $\text{NH}_2$  (arginine  $\alpha\text{-NH}_2$  group). الخطوة الثانية هي فلق - ATP بيتا لكتام سنثاز (ATP-cleaving  $\beta$ -lactam synthetase) آخر لتوليد الكتام الأحادي عن طريق الهندسة المعمارية المختلفة من أسباراجين سنثاز (asparagines synthetase) (خليلي وآخرون 2001، Khaleeli *et al.*). ويقترح تركيب أشعة - إكس للكتام سنثاز مع كاربوكسيل أرجينين المرتبط ومثابه ATP هندسة مطابقة مسبقة التنظيم موافقة لتكوين بيتا لكتام البين الجزئين (ميلر وآخرون 2001، Miller *et al.*). ومن ثم يعمل  $\text{CAS Fe}^{II}$  داي أكسجينيز (CAS  $\text{Fe}^{II}$  dioxygenase) في ثلاث خطوات منفصلة (الشكل ١٣،٢١)، أولاً كهيدروكسيلات ليركب OH بالقرب من الكاربوكسيلات وينتج بروكلافومينيت (proclavuminate). ثم يعمل CAS كسيكليز مؤكسد مضيفاً أكسجين الكحول إلى C٥ من بيتا لكتام، مولدا ٤/٥ وصل الحلقة في ديهيدروكلاف أمينيت (dihydroclavaminite) (زنانج وآخرون 2000، Zhang *et al.*). والتفاعل الثالث التتالي لـ CAS هو نزع التشبع المؤكسد، إدخال الرابطة المزدوجة الخارجية الحلقية التي تنتج إنول إثر (enol ether) في كلاف أمينيت. وتظهر الثلاث تفاعلات لـ CAS معالجة متقنة للتفاعلات الكيميائية لمصنعي (برناجي) two-His/ Asp platform لـ  $\text{Fe}^{II}$  في الموقع الشط.



الشكل (١٣،٢٠). عمل الترادف لـ CarA-C لتوليد لواء الكارباميت.

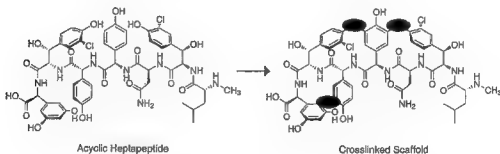


الشكل (١٣، ٢١). ثلاث تحويلات مؤكسدة بواسطة CAS أثناء بناء كلاف أمينيت.

### تفاعل إنزيمات بعد - عطف - التجميع: الأكسجة وارتباط بالفليكوزيل لأجليكونات

#### (aglycones) للفانكوميسين وتيكوبلاتين وأمسلة تيكوبلاتين

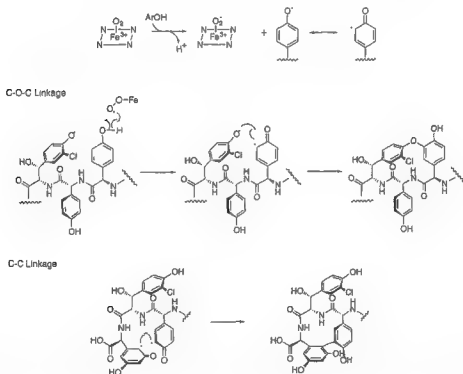
تحول ثلاثة إلى أربعة أنواع من تفاعلات النضوج الإنزيمية بتتد أجليكونات السباعي (هيتايتيد) الأحلي (acyclic heptapeptide aglycones) من الفانكوميسين وتيكوبلاتين إلى مضادات الفليكوبيتيد وجليكوبيتيد الدهنية الحيوية النشطة، بالترتيب (انظر هوبارد والاش 2002, Hubbard and Walsh). أولاً: مجموعة أمينو الحرة من D-Leu للفانكوميسين هيتايتيد يُؤمّل (N-methylated)، باستعمال S-أدينوسيل ميثونين (S-adenosylmethionine) كمادة مشاركة، تنفذ بواسطة إن - ميثيل ترانسفيراز الذي هو ORF 17 في مجموعة البناء الحيوي كلورولوموميسين (الشكل ١٣، ٩). ثانياً: الربط - التصالي المصلّب الذي يحدث في سلسلة أريل الجانية. ففي هيكل كلورولوموميسين / فانكوميسين، يوصل الربط - التصالي سلاسل أريل الجانية للفضالة ٢ و ٤، ٤ و ٦، ٥ و ٧ (الشكل ١٣، ٢٢)، بينما في هيكل تيكوبلاتين، ترتبط فضالات ١-٣ و ٤-٦ و ٥-٧ تصالياً. وبحول الربط - التصالي البتيد الأحلي المرن إلى شكل بناء هندسي على شكل -كوب شديد التقيد الذي يعطي السطح المتمم لتفاعل مع الهدف - ن-أسيل - د-الآئين - د-الآئين N-acyl-D-Ala-D-Ala في نهاية بيتيدوغليكان لجدار الخلية البكتيري.



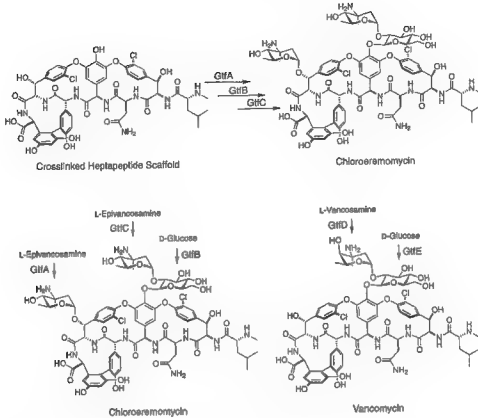
الشكل (١٣، ٢٢). الروابط - التصالية المصلّبة التي توصل سلاسل أريل في عائلة الفانكوميسين.

والربط-التبادلى ٤-٢ و ٦-٤ هما روابط أرىل إىثر (aryl ether bonds)، فى حىن أن الربط-التبادلى ٧-٥ هو رابط C-C مابشر، ولكن بالإمكان صباغة كلهمأ كازدواج جذرى لىبنا-OH كلورو-تىروسىنات electron-rich  $\beta$  (OH-chloro-tyrosines) الغنى بالإلكترونات (الفضالات ٢ و ٦)، ٤-OH-فىنل جلىسىن (4-OH-phenylglycine) (الفضالات ٤ و ٥)، و ٣,٥-داى هىدروكسى فىنل جلىسىن (3,5-dihydroxy phenylglycine) عند الفضالة ٧ (الشكل ١٣,٢٣). فى مجموعة كلوروإرمومىسىن، يوجد ثلاثة أنصاف بروتىنات، ORFs 7 to 9، وتوجد مشابهتان فى مجموعة باهلىمىسىن (bahlimycin) المتورطة فى عملىات الطرد الجىنى (بىسكوف وآخرون 2001 Bischoff *et al.*) كحفازات الربط-التصالى. وهذه السىتوكرومات P450 المفترضة، تستطىع تولىد جذور فىنولىكس فى السلاسل الجانبىة لمواد البىئىد السباعى لتبداً الروابط-التبادلىة. وإذا كانت أنصاف البروتىن (hemiproteins) الفردىة حفازات لانتقائىة موضع (regioselective) الربط-التصالى لم يحدد بعد.

والمجموعة الثالثة من إنزىمات النضوج هى غلىكوزىلترانسفىرازات (glycosyltransferases)، ثلاثة (GtfA, GtfB, and GtfC) للثلاثة سكرىات المراد إضاافتها إلى كلوروإرمومىسىن واثنى (GtfE و GtfD) فى مجموعة فانكومىسىن للسكرىات الاثنى هناك (لوسى وآخرون 2001 Losey *et al.*، سولىنبىرج وآخرون 1997 Solenberg *et al.*). يضاف السكر الأول لفىنولىك-OH (phenolic-OH) من فضالة PheGly، ويدفن فى الربط-التصالى ٦-٤-٢ (الشكل ١٣,٢٤) ويستعمل TDP-glucose كمادة مانحة مع GtfB كحفاز.



الشكل (١٣,٢٣). آليات تخلىق فىنولىكس الجذرى للربط - التصالى المتواسط - بالنصاف البروتىن المقترحة فى عائلة فانكومىسىن.



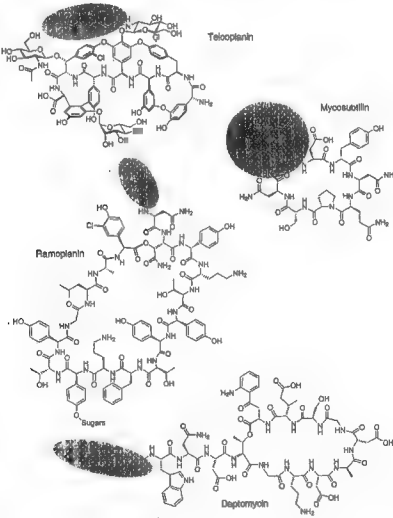
الشكل (٢٤، ١٣). ثلاثة غليكوزيل ترانسفيرازات نوعية الموضع تحيكة أجليكون في نضوج كلوروروموميسين.

وهذا الببتيد السباعي المرتبط تصاليباً من غلوكوزيل (glucosyl-cross-linked heptapeptide) هو الآن المادة الثانية لـ (Gtlf Gtlf for chloroeromycin) hglhlm hglahv;m. للمادة المشاركة لمسار كلوروروموميسين هي L-TDP - إيبيفانكوسامين (TDP-L-β-epivancosamine)، بينما في مسار فانكوميسين هي شطر TDP-L-β-vancosamine مع اختلاف فقط في تكوين C<sub>4</sub>-OH في السكر. وشطر إيبيفانكوميسين/فانكوميسين ينقل إلى C<sub>2</sub>-OH في مجموعة غليكوزيل، مكوناً رابطة ٢،١ داي سكريد (1,2-disaccharide linkage). وهذا يكمل البناء الحيوي للفانكوميسين، بينما يستعمل Gtlf (Gtlf) الثالث في مسار كلوروروموميسين جزيء آخر من TDP-L-β-epivancosamine لعملية β-OH (epivancosaminylate) للفضالة السادسة في هيكل ببتيد وينتج مضاد كلوروروموميسين الحيوي.

والنوع الرابع من التعديلات في هذه العائلة من المضادات الحيوية تحدث فقط في الصف الفرعي للتيكولانين ويتضمن أسلة (acylation) مجموعة أمينو لسكر واحد، جلوكوسامين. وسوف يتم شرحه في سياق عمليات أسلة أخرى لمضادات الببتيد غيرالريبوسومية أذناه. وفي تيكولانين تختلف البنية ووضع السكريات، مع إن-أسيل أمينوجلوكوسيدات (N-acylaminoglucoses) على أكسجين فينولييك من PhGly<sub>4</sub> و β-OH-Tyr<sub>6</sub> ومجموعة مانوسيل (mannosyl group) على الفضالة V.

## مضادات الببتيد الدهنية وجليكوببتيد الدهنية الحيوية

عدد من الببتيدات غير الريبوسومية هي ببتيدات دهنية بخاصية أسلة-إن (*N*-acylation) مع سلاسل أسيل الدهنية على مجموعة أمينو لفضالة الحمض الأميني الأول. ويشمل ذلك دابتومييسين (daptomycin)، راموبلانين (ramoplanin)، ميكوسوبتيلين (mycosubtilin)، وتيكوبلانين (teicoplanin). وبإمكان سلسلة أسيل أن تكون مستقيمة مشبعة (ميكوسوبتيلين)، مشبعة طرفياً (سورفاكتين surfactin)، وغير مشبعة (راموبلانين)، يعكس تكملة الأحماض الدهنية المصنوعة من هذه الكائنات المنتجة. ولقد تم نشر البناء الكامل لراموبلانين، مما يفتح الباب أمام دراسات النشاط-التركيبى (جيانج وآخرون 2002, Jiang *et al.*). ودابتومييسين في المرحلة 3 للتجارب السريرية للعداوى المزجية-لغرام (انظر برونسون وبارت 2001, Brosnson and Barrett). وتظهر مستبدلات بيتا أمينو- أسيل الدهني ( $\beta$ -amino fatty acyl)، كما في ميكوسوبتيلين وتصنع في الموقع (*in situ*)، كما هو مبين لاحقاً.



الشكل (١٣،٢٥) الببتيدات الدهنية المصنوعة بواسطة خطوط - تجميع بجيد مستثنى غير الريبوسومية.

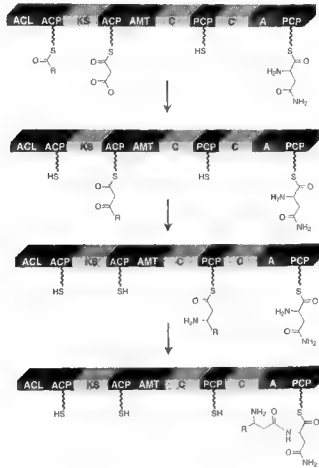
في معظم مجموعات الببتيد الدهني NRPS التي تم تسلسلها إلى اليوم، أسيل ترانسفيراز المسؤول عن أسلة -غير منتهية - إن للحمض الأميني لا تمنع مع مجموعة (كتلة) البناء الحيوي ويعرف القليل عن نوعيتها (خصوصيتها). وفي حالة ميكوسونيتلين، الحقول الخمس الأولى للوحدة الفرعية MycA (الشكل ١٣,٢٦) تكون مكرسة لبناء مجموعة  $C_{16}/\beta\text{-NH}_2\text{-acyl group}$  (دوتمان وآخرون 1999, Dustman *et al.*). ويعتقد بأن حقل ليغاز أسيل أم ب acyl-AMP ligase ينشط بالميتيت (palmitate) ويفرسه على الحقل ٢، الواقع مباشرة عند مصب ACP<sub>1</sub>. وحقل ٣ هو كيتوسيثيز، حقل ٤ هو ACP<sub>2</sub> الذي يُحمل افتراضياً مع مجموعة مالونيل. التكتيف بواسطة كيتوسيثيز (ketosynthetase) سينقل سلسلة أسيل C<sub>16</sub> ويصنع سلسلة  $\beta\text{-keto-acyl-C}_{18}$  على ACP<sub>2</sub>. والحقل الخامس له تشابه مع أمينوترانسفيرازات (aminotransferases) ومن المحتمل أنه ينقل ينقل عبر الأمين  $\beta\text{-keto-acyl-S-ACP}$  (transaminase) إلى بيتا -أمينو على حساب مادة الحمض الأميني المشاركة التي يجري أكسبتها إلى حمض كيتو.

يفترض بأن الحقل التالي، C<sub>1</sub>، ينقل سلسلة أسيل إلى PCP<sub>1</sub> ومن ثم يكشفه C<sub>2</sub> فوق مجموعة أمينو من Asp<sub>1</sub> المربوطة عند PCP<sub>2</sub> لتعطي N-capped Aam-PCP<sub>2</sub>.

ومن هنا تواصل إطالة السلسلة بواسطة عمليات خط - تجميع - NRPS الطبيعية. وأسلة -N لنهاية N لهذه الببتيدات غير الريبوسومية لها تشابه مع فورميلة-N-formylation لنهاية N ميثونين في بناء البروتين الريبوسومي في البكتيريا، مما يفرض التماثل بما أن فورميلمثيونيل (formylmethionyl) يستطيع أن يعمل فقط كمانع، وليس مستقبل، في خطوة تكوين رابط-الببتيد. ومن المحتمل كذلك بأن الببتيد غير الريبوسومي N-acylations توفر مراسي للغشاء لتحديد موقع المنتجات عند واجهات الغشاء. الهدف لرامولانين هو الدهن II في البناء الحيوي لبيتيدوغليكان، الذي هو في مثل هذا الموقع. السلسلة الدهنية في دابتوميسين يحتمل بأن تكون حاسمة (مهمة) لخواصها-المقلقة للغشاء. الاستعمال الثالث لسلاسل أسيل الدهنية  $\beta\text{-OH}$  و  $\beta\text{-NH}_2$  fatty acyl chains، مثال، سورفاكتين وفي مضادات الببتيد الدهنية الحيوية إيتورين (iturin)، هي أنها توفر ألياف التواء البين الجزيئية في التحطيق المتواسط ب TE كخطوات إنهاء في خطوط-تجميع NRPS. حلقة ماكرولاكتون من بيتا هيدروكسي أسيل الببتيد السباعي سورفاكتين هو من  $\beta\text{-O fatty acyl}$  إلى الكريونيل من Leu<sub>7</sub>.

تعد أسلة نيكولانين التي تكمل تكوين مضادات غليكوبيبتيد الحيوية مميزة عن الأمثلة أعلاه. سلسلة أسيل ليست على نهاية N من هيكل الببتيد. وبدلاً عن ذلك فتوجد على مجموعة أمينو لسكر أمينو. ولم تحدد هوية أسيل ترانسفيرازات بعد، على الرغم من أنه من المحتمل أن تكون acyl-CoA أو acyl-S-ACPs هي المواد المشاركة. وتزدج مشابهاً في البناء الحيوي للدهن A في البكتيريا السالبة -لغرام، حيث الفضالة GlcNAc يمنع منها الأسيتيل (deacetylated) إنزيمياً ومن ثم يعاد أسلتها (reacylated) بواسطة الإنزيم البنائي الحيوي مستملاً السلسلة الطويلة acyl-S-ACP كمادة مشاركة.

المعالجة لسلاسل أسيل في كلا الشكلين من مضادات الببتيد الدهنية الحيوية ربما تكون أحد الطرق لتفاوت التركيب وتحسين الخواص ضد الكائنات المقاومة.



الشكل (١٣،٢٦). آلية الأسلة-ن عند النهاية N لخط - تجميع ميكوسيتيلين مستثا.

خطوط - تجميع مهجن NRPS-PKS: بريستيناميسينات (pristinamycins)،

ريفاميسين (rifamycin)، وبليوميسين (bleomycin)

تعد بعض المضادات الحيوية هجين للبيبتيدات غير الريبوسومية وبوليكتيدات (انظر دو وآخرون 2001، Du et al.)،

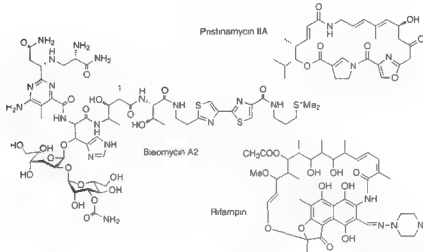
وتشمل بريستيناميسين IIB، المضاد الحيوي المضاد للورم بليوميسين وريفاميسين (الشكل ١٣.٢٧).

المركبان الأوليان يظهران بوضوح جزء تراكيب من كل نوع من خط التجميع. وليفاميسين IIB ثلاثة أحماض أمينية، Ser، Gly، Pro ومدفونة فيما بين امتدادات بوليكتيد. وليفاميسين له امتداد بوليكتيد قصير، مرمز بواسطة الوحدة الفرعية BLM VIII، المدفونة في تركيب الببتيد غير الريبوسومي. وريفاميسين، وإن كان يبدو أنه

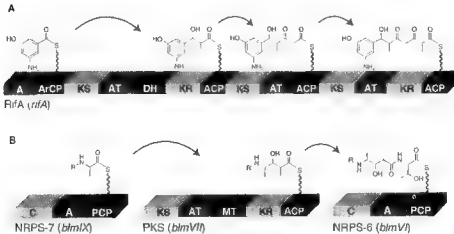


مضاد بوليكتيد حيوي بواسطة المسح الضوئي لتركيبه، له وحدة بادئة ٣ أمينو-٥-هيدروكسي بنزويت (3-amino-5-hydroxybenzoate) (الشكل ٢٨ ١٣) التي تنشط بواسطة بادئ-السلسلة ديدومين (didomain) الذي يعد أدلة (adenylation) وبرتوتين حامل أريل، مذكراً ببداية الببتيد غير الريبوسومي سيدروفور سينثيزات (siderophore synthetases) (أدميرال وآخرون 2001, Admiraal *et al.*).

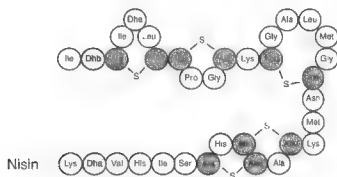
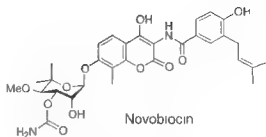
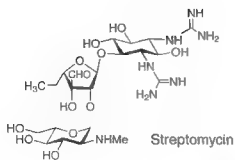
وفي هذه الحالات حيث جينات البناء الحيوي قد تم استنساخها وتسلسلها، فمخطوط-التجميع تمثل بالفعل فسيفساء (mosaic) لوحداث PKS وNRPD. وترتيب ووضع الوحدات يتنبأ بالبوليكيتيد أو موحداث الببتيد غير الريبوسومية التي حصل و تم إختيارها ودمجها في سلاسل أسيل الهجينة بمجرد تموها ونقلها كسلسلة من وسائط إطالة acyl-S-(ACP/PCP) التساهمية.



الشكل (٢٧، ١٣). هجين NRPS-PK: بليوميسين، بريستيناميسين IIA، وريفايسين، العصور من ريفاميسين.



الشكل (٢٨، ١٣). وحدات NRP و PK في مخطوط-تجميع (A) وريفايسين و (B) بليوميسين.



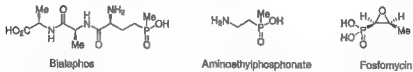
المضادات الحيوية المصنعة بتنوع

## البناء الحيوي لأصناف المضادات الحيوية الأخرى BIOSYNTHESIS OF OTHER CLASSES OF ANTIBIOTIC

يناقش هذا الفصل المنطق الإنزيمي لتكوين الأصناف الأخرى من المنتجات الطبيعية التي استخدمت في الطب البشري كمضادات حيوية. اختيار الموضوعات المحددة المكمل لبوليكتيد ومضادات الببتيد غير الريبوسومية في الفصلين الثاني عشر والثالث عشر. وأصناف المنتجات الطبيعية الأخرى ذات نشاط المضاد الحيوي لم تشرح بالتفصيل، ويرجع ذلك جزئياً لعدم المعرفة بالمنطق الإنزيمي للبناء الحيوي أو بسبب محدودية الاستخدام في علاج البشر. ولسياق أوسع من أصناف المنتجات الطبيعية تتجاوز تلك التي وُصفت هنا، بالإمكان الرجوع إلى سلسلة التسع مجلدات *كيمياء المنتجات الطبيعية الشاملة* (Comprehensive Natural Products Chemistry) (بارتون وآخرون 1999, Barton et al.).

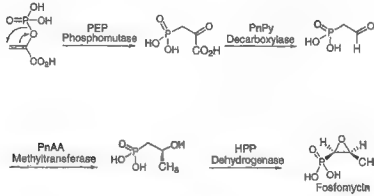
### فوسفوميسين (Fosfomycin)

السمة الأبرز حول المضاد الحيوي فوسفوميسين (الشكل ١٤، ١)، الذي يثبط MurA، الإنزيم الأول في البناء الحيوي لببتيدوغليكان (الفصل الثالث)، هي وجود رابط C-C مباشر في رابطة حمض فوسفونيك (phosphonic acid). وفوسفوميسين هو واحد من مجموعة صغيرة من المنتجات الطبيعية التي تحتوي على C-P المعروفة، ويظهر أن جميعها تثبت رابط C-C بواسطة نفس المسار الإنزيمي. وأمينو إيثيل فوسفونيت (aminoethylphosphonate) هو عنصر من الأغشية الدهنية تتراهيمينا (*Tetrahymena*)، بينما يعدُّ فوسفينوتريسيل-الأنين-الأنين (phosphinothricyl-Ala-Ala) (بيالافوس Bialaphos) مبيدات أعشاب C-P ثلاثي الببتيد (C-P tripeptidyl herbicide).



(الشكل ١٤، ١). محل المنتجات اغصية على C-P الطبيعية: ببالافوس، أمينو إيثيل فوسفونيت، و فوسفوميسين.

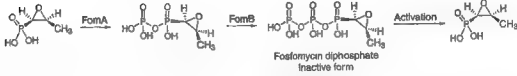
ينتج فوسفوميسين بواسطة المسار الإنزيمي ذا الخطوات - الأربع الفعال، المرّمز بالجين *fom-1-4* في المنتج المتسلسلة ويدمورينسيس (*Streptomyces wedmorensis*)، من المستقلب الأولي فوسفونويليروفيت (phosphoenolpyruvate (PEP) (سيتو 1999، Seto) (الشكل ١٤.٢). الإنزيم الأول، فوسفونويليروفيت ميوتيز (Fom1) (phosphoenolpyruvate mutase)، يثبت رابط C-P بواسطة الأسر البين الجزيئي من قبل أنيون  $C_3$  إينوليت (anion  $C_3$  enolate) كرابطة  $C_2-OPO_3H$  في كسور PEP في الموقع النشط ميوتيز (mutase). ومن ثم فوظيفة حمض ألفا-كيتو دي كاربوكسيلايد (يتزع الكربوكسيل) إلى الألبهايد (Fom2) (aldehyde) وتؤمّل بواسطة الإنزيم الذي يستخدم - ميثيل كوبالامين (Fom3) (methylcobalamin). والخطوة الأخيرة، الحفّازة بواسطة Fom4، وهو التحليق غير المسبوق لمجموعة  $C_2-OH$  فوق  $C_1-CH_2$  لتكوين حلقة إيبوكسيد وإنتاج فوسفوميسين.



الشكل (١٤.٢). مسار الباء الحيوي من PEP إلى فوسفوميسين.

وبالإضافة إلى الجينات التركيبية الأربعة، عدة جينات مجاورة مشتركة في الحماية - الذاتية لتسبح المضاد الحيوي. وثلاثة جينات *orfK* و *orfI* و *orfJ* يبدو أنها عناصر لبروتين مضخة التصدير لفوسفوميسين. كذلك، يضيف *OrfA* و *OrfB* مقاومة بواسطة فسفرة المضاد الحيوي الداخل الخلية، ويفترض قبل تصديره، إلى فوسفوميسين أحادي الفوسفيت (fosfomycin monophosphate) وفوسفوميسين ثنائي الفوسفيت (fosfomycin diphosphate)، بالترتيب (الشكل ١٤.٣). ويملك فوسفوميسين ثنائي الفوسفيت سلسلة جانبية مشابهة لنيوكليوسيد ثلاثي الفوسفيت (nucleoside triphosphates). وكل من فوسفوميسين أحادي الفوسفيت وفوسفوميسين ثنائي الفوسفيت غير فعالة ولكن بالإمكان تحللها إنزيمياً مرة أخرى لفوسفوميسين النشط بواسطة فوسفاتازات (phosphatases) في الوسط الخارجي. وهذه الحماية - الذاتية العكوسة تحفظ رأس حرب إيبوكسيد الكيمائي (epoxide chemical warhead)، على النقيض من فسحة إيبوكسيد المتوسطة - بغلوتاثيون (glutathione-mediated epoxide) في البكتيريا المقاومة التي لا تعدّ منتجة

لفوسفوميسين (الفصل العشر). وتعدُّ فسفرة الشكل البين الخلوي للمضاد الحيوي لنوع نشاطه قبل التصدير إستراتيجية متبعة كذلك من قبل منتجي سترتوميسين، كما لوحظ في القسم التالي.



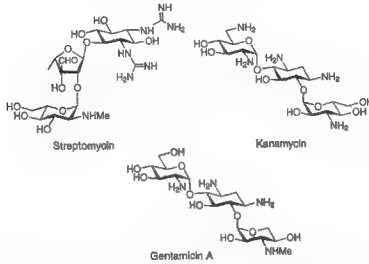
الشكل (١٤,٣). فسفرة الترايفر التسلسلي لشطر فوسفونيت في فوسفوميسين كآلية حماية - ذاتية في الشعبة ويدموريسيات.

### المسارات البنائية الحيوية لمضادات أمينوغليكوسيد الحيوية

مضادات أمينوغليكوسيد، أو أمينوسيكليول الحيوية، تمثل منتجات أبيض الكربوهيدرات الثانوية وهي منتشرة بين الشعيات (actinomycetes). بُدئَ بعزل سترتوميسين في ١٩٤٤م، تم اكتشاف مختلف أعضاء من العائلة خلال السنوات الخمس والعشرين التالية (بيبرسبيرج 1997, Piepersberg)، ويشمل توبراميسين (tobramycin) في ١٩٧٠م. ويستمر ورود تقارير عن أمينوسيكليولات (aminocyclitols) الجديدة إلى التسعينيات. واثنين من الفئات الرئيسة لمضادات الكربوهيدرات الحيوية ممثلة بصنف سترتوميسين (الشكل ١٤,٤) والمضادات الحيوية المحتوية على ٢-ديوكسي سترتامين (2-deoxystreptamine) التي تشمل نيوميسينات (neomycins)، كاناميسينات (kanamycins)، وجنتاميسينات (gentamicins) (الشكل ١٤,٤). ولسترتوميسين ٣ ثلاثة مكونات سكر: سيلو-إنسيتول- (scyllo-) هيكسوز (6-deoxyhexose) (سترتوز streptose) الموصّل مع إن-ميثيل-إل-جلوكوسامين (N-methyl-L-glucosamine). في المضادات الحيوية من صنف ٢-ديوكسي سترتامين مثال كاناميسين وجنتاميسين A، أمينوسيكليول هو الحلقة المركزية. التعديلات الجزئية التصنيعية (semisynthetic modification) لهذه المنتجات الطبيعية قد تمت ممارستها على نطاق واسع.

فعلى سبيل المثال، إضافة السلسلة الجانبية  $\gamma$ -OH- $\alpha$  أمينوبيتيريل (α-OH-γ-aminobutyryl) إلى 1-NH من كاناميسين ينتج الدواء السريري المعاصر أميكاسين (amikacin). وتحويل غليكوسيد - إلى - سيكليول (glycoside-to-cyclitol)، مركزياً لمنطق مسار البناء الحيوي للمضاد الحيوي هذا، يوجد في الأيض الأولي لتوليد إينوسيتول-فوسفيت (inositol-phosphate) من غلوكوز-٦-فوسفيت (glucose-6-phosphate) (glucose-6-P) في الطريق إلى البناء الحيوي لدهن الغشاء فوسفوانوسيتيد (phosphoinositide) (والش 1979, Walsh).

هناك بعض ٣٠ جينات مجتمعة سوياً ومنظمة في وقت واحد والتي تُشغَّل عندما تصنع التسلسلة جريسيس سترتوميسين (انظر بيرسبيرج 1997, Piepersberg). وهذه مشاركة في ترميز إنزيمات أيض السكر الثانوي الذي يصنع موحودات السكر الثلاثة، سترتيدين-6-P (streptidine-6-P)، TDP - داي هيدروسترهتوز (TDP-dihydrostreptose)، و nucleoside diphospho-N-Me-L-glucosamine، و ربطهم موضعياً و- تجسماً نوعياً (regio-and-sterospecifically). ويأتي streptidine-6-P من المستقلب الأولي D-glucose-6-P بواسطة تفاعل الدول بين الجزيئي (intramolecular aldol) الإنزيمي لصنع cyclitol-inositol-3-P، في التفاعل المعروف جيداً (انظر والش 1979, Walsh).



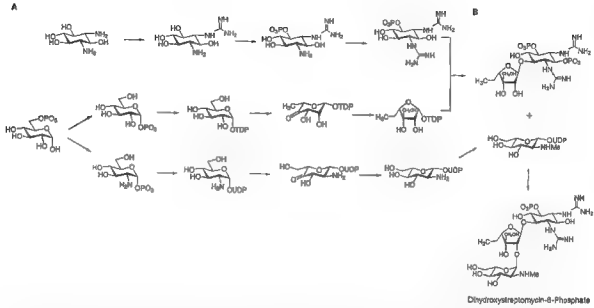
الشكل (٤، ١). صفات تركيبان رئيسان من مضادات اميوغليكوسيد (أمينوسيكليول) الحيوية: سترتوميسين ومفالين من كالاميسين وجنتاميسين A التي تحتوي على ٢-ديوكسي سترتامين (2'-deoxystreptamine).

ومن ثم سلاسل من التوليد الإنزيمي لمجموعات كيتو، عمليات نقل الأمين الاختزالية (reductive transaminations)، وتحويلات جوانيدينو (guanidine transfers) تنتج بيسجوانايدينو-سيكليول- P (bisguanidino-cyclitol-P)، سترتيدين-6-P (streptidine-6-P) (الشكل ٤، ١). وينتج TDP - داي هيدروسترهتوز (TDP-dihydrostreptose) من الوسيط المشترك في البناء الحيوي لديوكسي هكسوس (deoxyhexose)، TDP-4- كيتو - ٦ - ديوكسي غلوكوز (TDP-4-keto-6-deoxyglucose) (انظر الفصل الثاني عشر) بواسطة التقسيم القوي عند C٥ لتوليد رامنوس (TDP-4-keto-L-rhamnose)، يتبعه التحويل إلى تركيب فيورانوس (furanose) ذا الخمس-حلق في TDP -ثنائي هيدروسترهتوز، حيث ثنائي هيدرو يشير إلى حالة أكسدة الكحول لوحدة -كربون C٢OH واحدة عند C٣ (الشكل ٤، ١). الوسيط. NDP-L-glucosamine متوق بالمثل من NDP-D-glucose عن طريق ٤-كيتو، ٥- التقسيم القوي، يتبعه أمينة (amination)

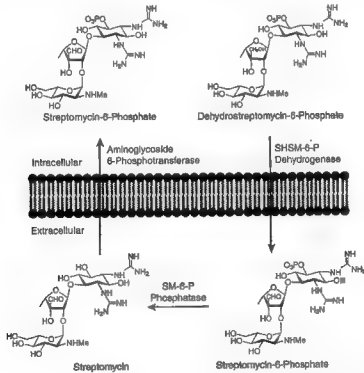
N- أمثلة عند C<sub>3</sub> (الشكل ١٤.٥ ، الأسفل). ويهاجم 4-OH من C<sub>1</sub> streptidine-6-P من TDP-dihydrostreptose في التكتيف الأول للغليكوزيل ترانسفيراز، ويعد ذلك يزيح 2'-OH من هذا السكريد الثاني الـ NDP-N- NDP-methyl-L-glucosamine ليتنج ذاي هيدروستربتوميسين-6-P (dihydrostreptomycin-6-P). وهذه نهاية المرحلة السيترولازمية للبناء الحيوي لستربتوميسين في التسلسلة جريسيس وينتج عن ذلك طلائع نشطة. وهذه تُصَدَّر تحديداً عن طريق مضخة معتمدة على- ATP وتؤكسد من المرحلة ثنائي هيدروC<sub>2</sub>OH إلى CHO في streptomycin-6-P أثناء المرور عبر الغشاء بواسطة الإنزيم المؤكسد أوكسيديز. والآن يملك streptomycin-6-P في الفضاء الخارج الخلية مجموعة 6-OPO التي أزيلت بالتحلل المائي بواسطة إنزيم فوسفاتاز وكذلك رُمِزَت في الكتلة وصُدِرت (الشكل ١٤.٦). وهكذا فالستربتوميسين الحر هو المضاد الحيوي النشط.

يشمل البناء الحيوي بعض ٢٧ خطوة إنزيمية. وتزود الكائنات المنتجة مقازمة - ذاتية بواسطة تراكم الطلائع غير النشطة فقط في داخل الخلية، كل من ثنائي هيدرو والمفسفرة، وتُنفذ خطوتين كيميائيتين أثناء وبعد الإفراز. وهذا مماثل للارتباط بالغليكوزيل لأولياندوميسين بينما في الخلية المنتجة تُبقي ذلك الماكروليد غير نشط إلى أن يتم إفرازه وينزع منه السكر (deglycosylated) نوعياً (الفصل السابع). وبالإضافة إلى آليات الحماية - الذاتية هذه، بإمكان متنجي سترتوميسين إعادة فسفرة (rephosphorylate) أي سترتوميسين يعود مرة ثانية، عند C<sub>6</sub> مع فوسفوترانسفيريز (phosphotransferase)، وبالمثل يفرز متنجي كاناميسين ٦'-أسيتيل ترانسفيراز (acetyltransferase 6'). وكلا الإستراتيجيتين تنذر بالآليات المكتسبة في المُمرضات السريعة التي تصبح مقاومة لمضادات أمينوغليكوسيد الحيوية (الفصل العاشر). أخيراً، في متنجي جنتاميسين، تزود طبقة إضافية من الحماية-الذاتية بواسطة أمثلة N- الإنزيمية للموقع عالي - الانجذاب 16S Rna (بيبرسبيرج، 1997 Piepersberg) لخفض الانجذاب للأمينوغليكوسيدات عند الريبوسومات. تُنظم مشغلات (operons) البناء الحيوي لستربتوميسين (الشكل ١٤.٧) بواسطة جزيئات استعمار-الغشاء، كما شُرح في الفصل الحادي عشر. ففي التسلسلة جريسيس هذا هو العنصر A بيوتانوليوليد (butaneolide A factor) (الشكل ١١.٦)، التسلسل الهرمي للتنظيم العالمي والمسار المحدد، خلال مستقبل العنصر A ويعد ذلك إلى قاعع strR، ينطبق على ٢٣ جينات في المشغلات الثمانية للشكل (١٤.٧).

منطق صنف B أمينوغليكوسيدات مشابه من حيث التعديلات الإنزيمية لسكريات NDP- لنزع الأكسجين (deoxygenation) والأمنة الاختزالية وتوليد أمينوسيكيتول واقتران غليكوزيل ترانسفيراز. آفاق البناء الحيوي الاندماجية لصنع أمينوسيكيتولات جديدة، مثال، مع مزيد من الحلقات وتوصيلات جديدة، ربما تكون جيدة، لإقامة نظم لجولات جديدة من اللاكلاّت والأسلاّت (alkylations and acylations) الشبه-اصطناعية، على الرغم من أنه يبقى أن نرى إن كانت ستتنتج أنشطة جديدة. وفك رموز مواقع الربط لصنف B و A أمينوسيكيتولات على 16S rRNA (الفصل الرابع) قد يساعد في تصميم مضادات أمينوسيكيتول أفضل.

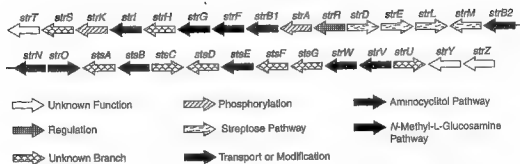


الشكل (١٤، ٥). مسار البناء الجزيئي إلى dihydrostreptomycin-6-P. (A) الخط المائل: الفرع streptidine-6-P: الخط الأوسط: الفرع dihydrostreptomycin-6-P. (B) عمل غليكوزيل ترانسفيراز ليعطى dihydrostreptomycin-6-P. الفرع TDP-dihydrostreptose، الفرع NDP-N-methyl-L-glicosamine



الشكل (١٤، ٦). تصغير وتنشيط dihydrostreptomycin-6-P: تحويل dihydro  $\text{CH}_2\text{OH}$  إلى  $\text{CHO}$  في سيريوسمين وتوقع الفوسفور الإيجابي الخارج الخلية.





الشكل (١٤,٧). كتلة ٢٢ جينات لثمانية مشغلات للبناء الحيوي لستروميسين.

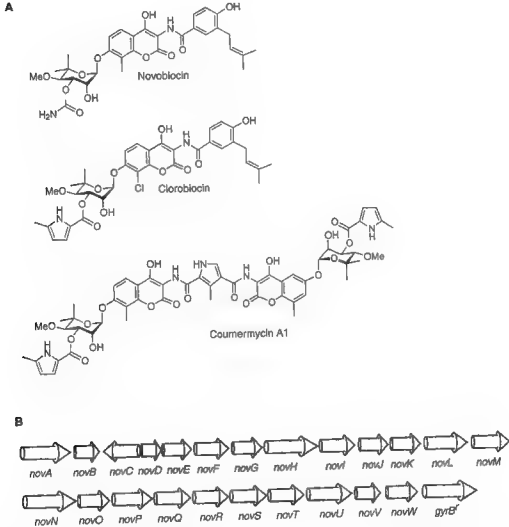
### البناء الحيوي للمضادات الحيوية المشتقة من - كوريسميت (chorismate):

#### الأمينوكومارينات و كلورامفينيكول

مثبطات ال دنا غيرازكلورويوسين (chlorobiocin)، نوفوبيوسين (novobiocin)، والمنثوي كوميرميسين (coumermycin) جميعها تشترك في أمينوكومارين المركز (اللب) و سكر نوفبوس (noviose sugar) التي تعد مهمة للربط مع الوحدة الفرعية GyrB من دنا غيراز (الفصل الخامس) وتعزل تكرار ال دنا. وحلقة أمينوكومارين الثائية الحلقية، شيدت من تيروسين، والتي بدورها مشتقة من كوريسميت، الوسيط المهم في البناء الحيوي للحمض الأميني العطري (الشكل ١٤,٨ A).

ولقد تم تسلسل كتلة جين البناء الحيوي لكل من نوفوبيوسين وكتلة كوميرميسين من التسلسلات وسمحت بالتنبؤ بالمسار الذي فيه كل من النصفين من نوفوبيوسين يُشتق من تيروسين (الشكل ١٤,٨ B). ينشأ الجانب على اليد-اليمنى من (prenylation) للتيروسين وبعد ذلك نزع الكربوكسيل المؤكسد (oxidative decarboxylation). وينشأ الجانب على اليد-اليسرى من تيروسين  $\beta$ -OH- ( $\beta$ -OH-tyrpsine)، والذي بعد ذلك يؤكسد إلى بيتا-كيتو ويحلّق إلى كومارين. مثيلات C- ومن ثم ارتباط بالغليكوزيل (إضافة السكر) والتكثيف بواسطة برنيل بنزويت (prenyl benzoate) على اليد اليمنى، ينشئ رابطة البّيْد في حامض نوفوبيوسيك (novobiocic acid). يتم الربط بالغليكوزيل (glycosylated) أجليكون بواسطة TDP-noviose ليكمل مسار نوفوبيوسين (الشكل ١٤,٨ ج). يحتوي كلورويوسين (chlorobiocin) وكوميرميسين على مستبدلات بيرول (pyrrole) في مكان مجموعة O-كاربامويل (O-carbamoyl group) فوق سكر نوفبوس وتلك تنشأ من برولين (proline). وكل من بيتا-إدخال عنصر الهيدروجين لتيروسين وأكسدة بيتا لبرولين إلى بيرول يحدث على بركة الحمض الأميني المحتجزة، نشط ويقيد على حقلين أمينو أسيل - بيتيديل لحامل بروتين ستيثاز (aminocacyl-peptidyl carrier protein synthetase) مع تشابه مع وحدة التحميل الليبي ستيثاز غيرالريبوسومي (الفصل الثالث عشر) (الشكل ١٤,٩). إدخال عنصر بيتا - الهيدروجين لـ Tyr-S-PCP (NovH) يجري بواسطة الشريك هيميبروتين هيدروكسيلاز (NovI) (تشين والاش، 2001 Chen and Walsh)، بعد ذلك يؤكسد إلى  $\beta$ -keto

Tyr-S-PCP بواسطة NovJ و NovK. وهذا ربما ينشئ ليتم تحليقه إلى كومارين ول يطلق من NovH. الزوج من أطر القراءة المفتوحة المقارن (١٩ و ٢٠) في كتلة كلوروراموميسين (الشكل ١٣٠.١٠) يصنع  $\beta$ -OH-Tyr المواقع ٢ و ٦ في هيكل الببتيد السباعي من مضادات غليكوبيتيد الحيوية (هوبارد ووالش 2002, Hubbard and Walsh). ويؤكسد Pro-S-PCP بواسطة فلافوبروتين النازع التشيع (flvoprotein desaturase)، أقرب إلى تفاعل fatty acyl-S-PCP desaturase (Thomas *et al.*, 2002). ويستعمل هذا المنطق كدلم بواسطة المتسلسلة كوليكلولر لتصنع أنديسيلبرودييجيوسين (undecylprodigiosin) (Thomas *et al.*, 2002). وهذه الإستراتيجية ربما تحصل أيضاً مع البناء الحيوي لكلورامفينيكول، كما هو مبين لاحقاً.

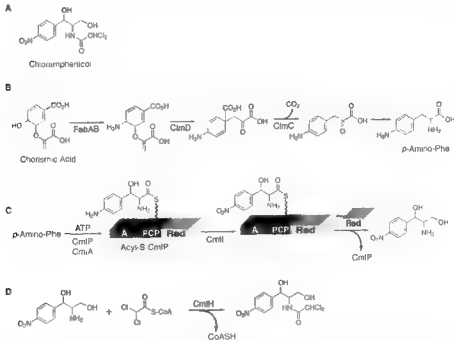


الشكل (١٤, أ). مضادات أمينو كومارين الحيوية والمنطق البائي الحيوي: (أ) تراكيب كلورديوسين، نوفوبيوسين، وكومرميسين A1، جينات مسار نوفوبيوسين. (ب) جينات



تم عزل مضاد كلورامفينيكول من التسلسلة فينزيلية (*Streptomyces venezuelae*) في ١٩٤٨م (انظر مالك Malik, 1972). فيننج سنوتارد (Vining and Stuttard, 1995) واستخدام على نطاق واسع لبعض العقود كحامل مضاد بكتيري واسع - المدى، نشط ضد كل من العدوى البكتيرية السالبة لغرام والموجبة - لغرام بواسطة عرقلة بناء البروتين

البكتيري كمضاد لمستقلب الحمض الأميني. ويحدث الربط في مركز بيتيديل ترانسفيراز (ناقلة البتيديل) للوحدة الفرعية لريبوسوم 50S (الفصل الرابع). ويمكن أن يحدث تأثيرات جانبية خطيرة في الدم، وتشمل الأنيميا الانسجعية القاتلة (fatal aplastic anemias)، التي تحدث من استعماله الحالي. الكلورامفينيكول (الشكل ١٤.١٠ A) هو جزيء بسيط ذو هيكل نيتروفينيل سير-ينول (nitrophenylser-inol) الذي فيه يتم تأسيس مجموعة أمينو مع مجموعة داي كلورو أسيتيل (dichloroacetyl group). ويأتي العمود الفقري بوضوح عبر مسار كوريسميت، عن طريق أمانة، لإنتاج 4-amino-4-deoxychorismate، التي على إعادة ترتيب مسار 3-3-sigmatropic (الموجه لسيجما) والتعطير النازع للهيدروجين (dehydrogenative aromatization) يعطي بارا-امينوفينيل الآتين (para-aminophenylalanine) (الشكل ١٤.١٠ B). وتحويل  $\beta$ -CH<sub>2</sub> إلى CHOH لأمينوفينيل سيرين (aminophenylserine) ربما يحدث أيضاً بينما يثبت الحمض الأميني على A-PCP reductase للوحدة الفرعية للثلاثة حقول (الشكل ١٤.١٠ C). aminophenylseryl-S-PCP وعندها ينقل اختزالياً بواسطة الحقل الثالث في البروتين ليطلق أمينوفينيل سيرينول (aminophenylserinol). وهذا الطريق من خطوتين من المضاد الحيوي. واحد هو داي كلورأسيتيليشن (dichloroacetylation)، المفترض بأن يحدث من dichloroacetyl-CoA (فيننج وستوتارد 1995)، والآخر هو أكسدة-N (N-oxidation) من مستبدل بارا-أمينو إلى بارا-نيترو (para-amino to para-nitro) (الشكل ١٤.١٠ D). يستخدم بعض المنطق والآلية لانقضاء بتيد سثيتاز غير الريبوسومي، تنشيط، وتعديل موحودات الحمض الأميني في هذه المضادات الحيوية المستندة على الحمض الأميني.



الشكل (١٤.١٠). الخطوة الإستراتيجية لبناء الكلورامفينيكول: (A) تركيب كلورامفينيكول، (B) كوريسميت إلى بارا - أمينوفينيل الآتين، (C) بيتا-مضادة الهيدروكسيل واختزال كربوكسي، (D) داي كلورأسيتيليشن و أكسدة -N

## الخصائص الوراثية للانتيبوتيك (lantibiotic) والبناء الجيوي

### الميكروسين B17 (microcin B17)

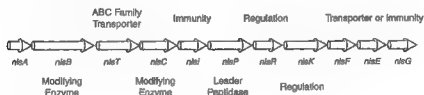
لاحظنا آليات عمل الصنف A (مثال، نيسين nicin) والصنف B (مثال، ميراسيدين meracidin) من مضادات الببتيد الجرثومية - المحتوية على لانثيونين (lanthionine)، اللانثيونيكس، في الفصل السادس. تتجمع الجينات لإنتاج الانتيبوتيك الريبوسومي المتولد (الشكل ١٤.١١) ويشمل الجين التركيبي الذي يرمز الببتيد الطليعة، جينات نزع الهيدريد هيدرتاز (dehydratase) التي تحول فضالات Ser and Thr إلى دي هيدروالانين وديهدروبوتيرين (dehydroalanine and dehydrobutyrine)، الجين القائد ببتيداز (peptidase)، والجينات لمضخات التصدير لإفراز مضادات الببتيد الناضجة. وعلى سبيل المثال. نيسين، مضاد ببتيد جرثومي من لكتوكوكس لكتيس (*Lactococcus lactis*) الواسع الاستعمال كحافظ للأغذية، يصنع من كتلة ١١-جين، *nisABTCIPRKFE* التي تمتد 14kbp على عنصر قابل للنقل وهو نموذج لكتل جين البناء الجيوي للانتيبوتيك (انظر هانسين 1997، Hansen، للمراجعة). ويرمز جين *nisa* شكل الطليعة لمضاد ببتيد الجيوي: وفي حالة نيسين، فله ٥٧ فضالات. وفي أثناء النضج الإنزيمي، يحدث نوعان من التعديلات. الأول، يعدل ١٣ فضالة. ثمانية فضالات من سلاسل بيتا-هيدروكسي الجانبية من Ser، و Thr، تجفف (dehydrated)، ربما بواسطة إنزيم NisB، لتنتج فضالات دي هيدروالانين (dehydroalanine) و دي هيدرو بوتيرين (dehydrobutyrine) (الشكل ١٤.١٢). خمسة من سلاسل حمض أوليفينيك (olefinic acid) الجانبية تؤسر بواسطة سلاسل خمس سلاسل سيستسن ثيوليت (cystein thiolate) الجانبية لتنتج خمس روابط ثيوليث (thioether linkages)، فضالات الانثيونين وبيتا-ميثيل لانثيونين (lanthionine and  $\beta$ -methyl lanthionine) (الشكل ١٤.١٢ B)، التي تربط - تبادلياً نيسين الناضج وتنشئ البناء الثلاثي - الأبعاد المقيد، وثيق الصلة بالنشاط البيولوجي. وهذه تبدو الوظيفة الحفّازة لبروتين NisC.

عند هذا الالتحام يحدث النوع الثاني من التعديلات، الانفلاق الحال للبروتين لفضالات نهاية N-(N-terminal 23)، لينتج لانتيبوتيك نيسين ذا فضالة ٣٤ الناضج (الشكل ١٤.١٢ C). وفضالات نهاية - إن ٢٣ تعمل كطليعة ببتيد (propeptide) ضرورية للتجفاف وتفاعلات ثيوليث المحفزة بواسطة إنزيمات NisB و NisC وربما تساند الطية (الثنية) التي تسمح بمثل هذا التمييز. ويحدث التشذيب الحال للبروتين (proteolytic trimming) نوعياً بواسطة بروتين NisP protease الرمز في الكتلة. ومن بين الجينات السبعة الأخرى في الكتلة، واحد، NisI، الذي يرمز وظيفة مناعية في حين أربعة (NisT, NisE, NisF, and NisG) مرتبطة في وظائف النقل أو الضخ. NisT هو مضخة - حالة ATP- (ATP- hydrolyzing pump) للنوع الذي تم شرحه في الفصل التاسع ويعتقد بأن تكون مضخة التدفق الرئيسة (الأولية) لنيسين الناضج ولانتيبوتيكس الأخرى في كتل Lan ذات العلاقة. ويعتقد بأن تكون بروتينات NisE, NisF و NisG

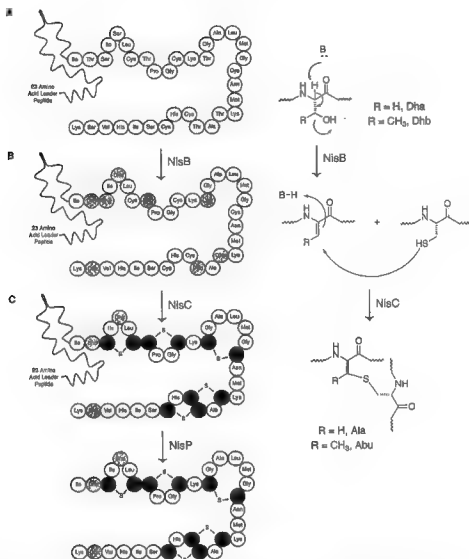
مضخة أمان - فشل (fail-safe pump) إضافية ، لإزالة أي لانتيبوتيك الذي يجعل طريقها للرجوع فوق الخلية المنتجة وبذلك يشكل مناعة أو وظيفة مقاومة-ذاتية. وأخيراً ، ترمز جينات *nlsK* و *nlsR* المنظم -ذا الشقين (R) وبروتينات كيناز الحسية (K) (sensor kinase) التي تتحكم في انتساخ جينات لانتيبوتي بواسطة منطق مسار الشقين (two-component pathway logic) الذي شرح عدة مرات في هذا الكتاب. ويشير تحليل تنظيم اللانتيبوتيك ذا العلاقة سيتيلين (subtilin) إلى التحكم المزدوج بتنشيط جين البناء الحيوي ، بواسطة كيناز الاستشعاري / منظم الاستجابة ذو - المركبين (two-component sensor kinase / response regulator) وأيضاً بواسطة إزالة الكبح (derepression) من عنصر سيجما (sigma factor) البديل لبوليميراز دنا الذي يتحكم بانتساخ جينات منظم الاستشعار / الاستجابة (Stein *et al.*, 2002).

ويوجد حوالي اثنين درزينة من كتل لانتيبوتيك المعروفة حالياً ، الببتيدات القائدة ونوعين من تعديلات السلاسل ، تحفاف سلاسل  $\beta$ -OH الجانبية ومن ثم الأسر لصنع الروابط-التبادلية ثيوإشر ، فلاحتمالات لهندسة الببتيد الهجين عالية. وليس من الواضح كم من فضالات دي هيدروالانين (dehydroalanine) ودي هيدروبوتيرين (dehydrobutyrine) متبقية (ثلاثة في نيسين) ، بواسطة تأثيراتهم المصلبة على روابط الببتيد ، يضع التشكيلات الموضعية التي تساهم في نشاط المضاد الحيوي. ولصنف B من لانتيبوتيكات ، والتي لا تعد أصلاً مكونات لمسام الغشاء ولكن لديها أهداف معينة مثل الدهن II في البناء الحيوي لببتيدوغليكان ، الطرق الهندسية والتوافقية للمكتبات ربما يكون النشاط الأمثل. وتقترح دراسات التركيب/الوظيفة الحديثة بأن النوع A و B من لانتيبوتيك لهما انتقائية مختلفة في تفاعل الدهن I والدهن II ويقترح بأن هذه لا تعمل كبتيدات من كلا الجانبين (أمفيهيليك) (amphiphilic) كتيونية غيرنوعية (بروتز وساهل 2000, Brotz and Sahl).

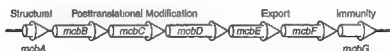
يوجد المتغير الثاني لنضوج مضاد الببتيد الريبوسومي الحيوي مع المنطق المشابه لنضوجات لانتيبوتك في مُشغل مضاد الإشركية القولونية ميكروسين B17 (microcin B17) (الشكل ١٤، ١٣) ، مثبت دنا غرياز (الفصل الخامس عشر) (انظر سينها روي وآخرون 1999, Sinha Roy *et al.* ، للمراجعة) . ومثل لانتيبوتكس ، ينتج ميكروسين B17 من طليعة بروتين صغيري ريبوسومي مرمز ، البروتين McbA فضالة-٦٩ (McbA protein 69-residue) ، والإنزيمي المعدل على سلاسل سيرين وسيستين الجانبية ، في هذه الحالة أربعة لكل واحد ، بواسطة البروتينات McbB, McbC و McbD.



الشكل (١٤، ١١). كلة البناء الحيوي لنيسين.



الشكل (١٤، ١٢). التعديل الإنزيمي للشكل prepro لللايسين: (A) تجفاف السلاسل الجانبية Ser و Thr بواسطة NisB، (B) تكوين ثيواثر بواسطة مهاجمة سلاسل Cys الجانبية المحفزة بواسطة NisC، (C) الإفلاق الحلال للبروتين من التسلسل القائد للفضالة ٢٣-لنهاية N بواسطة NisP.

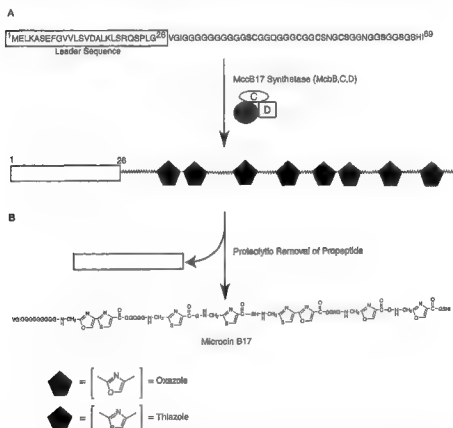


الشكل (١٣، ١٤). الجين لإنتاج ميكروسين B17 (microcin B17) والتعجوج الإنزيمي للمضاد الجيوي النشط.

النتيجة الكيميائية ليست روابط - تبادل ثيواستر ولكن بدلاً عن ذلك التحليق المتغير (heterocyclization) ل Ser إلى أوكسازول (oxazoles) و Cys إلى حلقات ثيازول (thiazole rings) (الشكل ١٤، ١٤). A.

وهذه خمس الحلقات - الأعضاء، التي تنشأ من بحث إنزيمات التجفاف التدويري ( cyclodehydration ) enzymology ) على شطور الببتيد الثنائي Gly-Ser، Gly-Cys، أو Ser-Cys، Cys-Ser في McbA، يصبب هيكل الببتيد ويحمي ميكروسين B17 من اللوزيان (التحلل) البروتيني (proteolysis). وبالتحديد، الترادف bis المتناهي الحلقي (tandem bis heterocycles)، المتولد من Ser-Cys المجاور وفضالات Cys-Ser، ربما تكون المحددات الرئيسة للتفاعل مع دنا-دنا-غيزاز DNA-DNA-gyrase لتفلق دنا المزدوج - الخيط (هيلد وآخرون 2001، Heddle *et al.*).

التناظر الإضافي للنضوج لانتيسيتوك هو الانفلاق الحال للبروتين للفضالات ٢٦ الأولى للميكروسين بعد أن يتم إدخال الحلقات المتغايرة الإنزيمية، فإزالة الببتيد الطليعة (propeptide) (الشكل ١٤، ١٤ B). ومرة ثانية يعد الببتيد الطليعة أساسا لحدوث أي تضبيع بواسطة McbB، McbC، McbD ومضاد ميكروسين B17 الحيوي الناضج، مع فضالات ١٤ من ٤٣ والمعدلة إلى ثمانية حلقات متغايرة، يفرض بعد ذلك بواسطة ماكينة مضخة التصدير McbE McbF، في تناظر (تشابه) واضح لماكنة تصدير بروتين NisEFG. والجين السابع في مشغل Mcb، *mcbG*، يرمز الوظيفة المناعية التي لم تحدد بعد التي تحمي الإشريكية القولونية المنتجة من أن تحرق من DNA غيزاز الخاص بها.



الشكل (١٤، ١٤). النضج الإنزيمي لميكروسين prepro B17، تكوين حلقة تهازل وواكسازول اخفزة بواسطة McbB McbC, and McbD، (A) (B) الإزالة الحاملة للبروتين لفصالة-٢٦ نهاية N-لطيفة الببتيد (propeptide).



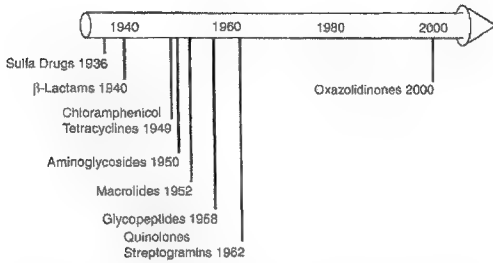
## الإستراتيجيات الجديدة لإيجاد مضادات حيوية

### جديدة وإطالة عمرها الزمني

#### NEW STRATEGIES FOR FINDING NOVEL ANTIBIOTICS AND EXTENDING THEIR LIFETIMES

عدة إستراتيجيات مطلوبة من أجل التوصل إلى مضادات حيوية جديدة، وتشمل أصناف تركيبية ووظيفية جديدة للتعامل مع الجهمرة البكتيرية المُمرضة والمتعددة المقاومة للدواء ولتتمديد فترة بقاء المضادات الحيوية الفعالة في معالجة الإنسان إلى أقصى حد ممكن. وتتناول الفصول الثلاثة الأخيرة من هذه القسم الأخير عديداً من المسائل المعاصرة. من أين تأتي المضادات الحيوية الجديدة؟ هل بإمكاننا تسريع عملية الاكتشاف؟ وهل بإمكاننا أن نبطئ ظهور سلالات الممرضات السريية متعددة - المقاومة من البكتيريا المُمرضة؟ لقد وفرت ثروة المعلومات الجينية الأخيرة فرصة واضحة لتحديد وإثبات صحة الأهداف المضادة البكتيرية الجديدة وتفحص في طرق - إنتاجية عالية في المختبر، في المقاييس المستندة على الخلية، وفي الحيوانات - اللجينات التي تعدُّ ضرورية للنمو أو حيوية للفوعة. والبعض من هذه الطرق تم تحليلها في الفصل الخامس عشر.

من الواضح وجود حاجة ملحة لجزيئات جديدة. وأحد المؤشرات هو أن نلظر إلى الوقت لإدخال أصناف جديدة من العوامل المضادة البكتيرية منذ إدخال أدوية السلفا في ١٩٣٦. ولقد كان هناك صنف رئيس جديد واحد فقط الذي أدخل في الأربعين سنة الماضية، أوكسازوليدينون المصطنع، في عام ٢٠٠٠م. والعديد من الطرائق لاكتشاف جزيئات جديدة تمت مناقشتها في الفصل السادس عشر. وأخيراً، هناك اندماج للمخاوف حول المقاومة الفردية وأسلوب الصحة العمومية للمشكلات العالمية بشأن انتشار المرض العددي ومخازن المقاومة. وهذا يسلط الضوء على الحاجة لأساليب مختلفة لحماية ترسانة المضاد الحيوي وتحسين صحة السكان لأقصى حد ضد الأمراض البكتيرية التي تم تناولها في الفصل الختامي.



الجدول الزمني لإدخال أصناف جديدة من المضادات الحيوية في الممارسة السريرية

## نظرات جديدة على الأهداف NEW LOOKS AT TARGETS

### تحديد أهداف جديدة من الجينومات الجرثومية

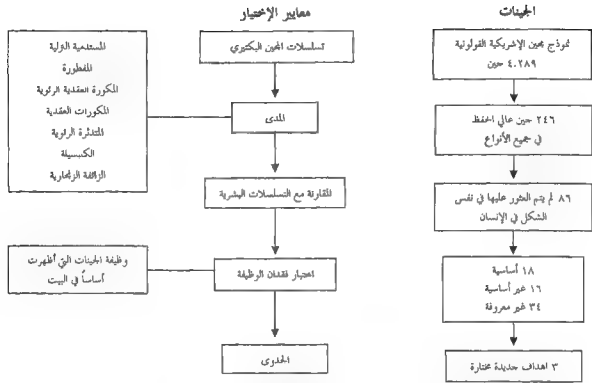
الهدف من إختيارات هدف المضادات الجرثومية (البكتيرية) المعاصرة لزيادة الفرصة التي يمكن من خلالها إيجاد وتطوير أدوية جديدة إلى أقصى حد يبدأ مع المعلوماتية الحيوية للبحث عن أطر قراءة مفتوحة (open reading frames (ORF)) المحفوظة عبر الكائنات الهدف البكتيرية المحتملة، من كل بكتيريا في الحالة الأكثر عمومية لجميع الكائنات الموجبة - لغرام أو السالبة - لغرام كأصغر الفئات التي ما تزال تستحق الهجوم، ومعيار المعلوماتية الحيوية الثانية المرغوبة هو أن يتم العثور على أطر القراءات المفتوحة انتقائياً في بدائيات النواة وليس في سويات النواة، وبالأخص سويات النواة العليا. المعيار الثالث المتفق عليه عموماً هو اختبار تجريبي هو بأن أطر القراءة المفتوحة ضرورية في واحد أو أكثر من المُعرضات ذي العلاقة بواسطة بعض الطرد الوظيفي أو أسلوب الاستئصال. تعدُّ الجينات التي تمر هذه الفلاتر أفضل المرشحين للذهاب إلى فحوصات عالية - الإنتاجية لتوليد الضربات الأولية. والفحوصات ربما تشمل مقايسة النشاط الإنزيمي إذا كانت واحدة قد أنشئت أو ربطت الربطة، مثال، تغيير الفلورية (fluorescence change) أو الحماية ضد الحراري أو الإتلاف (التمسخ) المحفز - بتشاتروب (chaotrope-induced denaturation). وبما أن المركبات في المكتبات غير محسنة، فقط الانجذابات المعتدلة يتوقع أن تكون في الفحوصات الأولية، وهكذا تعين التراكيز للكشف عن بعض عتبات (حدود) (threshold) التثبيط أو الربط، مثال،  $10 \mu\text{M}$ . يعاد فحص الضربات الموجبة، ويعاد تصنيفها، وتُختبر في المقاييسات الثانوية إذا كانت متوفرة، وبعد ذلك تكون كنقاط انطلاق للكيمياء الموجبة، إما جهود مكتبة صغيرة ومركزة وإما تفصيلات جزئية - مفرد لزيادة الفعالية في مدى جزء من بليون من المول (nanomolar).

تسلسل الجينوم الكامل للعظم وإن لم يكن لجميع المُعرضات البكتيرية الرئيسة التي تم العثور عليها خلال السنوات النصف - درزينة الماضية حول الأمراض المعدية تماماً في جميع أنحاء المنطقة المستهدفة. من حقل البحث

والتحري الذي كان بشكل فعال هدف ضعيف على مدى العقود الثلاث الماضية (عرقلة الببتيدوغليكان (PG)، تثبيط الريبوسوم، دنا غيراز)، والآن هناك ما لا يقل عن الإحراج (العائق) المؤقت لثروات الهدف، مع درزينات إلى مئات من منتجات الجين المرشحة كأهداف جديدة.

التحليل المعلومات الحيوي لأكثر من ثلاثة درزينات من الجينات الجرثومية المعروفة (كما في يونيو ٢٠٠١م، ٤١ مجن جرثومي أدرج في قاعدة البيانات الجرثومية لمعهد البحوث الجينية) (The Institute for Genomic Research's microbial database) للبحث عن الأهداف المعروفة في واحد أو أكثر من الكائنات الدقيقة لتكون ضرورة للبقاء على قيد الحياة، عالية الحفظ عبر مدى واسع من الممرضات البكتيرية وإما غائبة أو متميزة في البشر (انظر روساموند وآلسوب Rosamond and Allsop, 2000، للمراجعة). واحد القيود لتحديد الجينات المحفوظة غير المعروفة الوظيفة هي فشل الشرح للوظيفة المفترضة بواسطة التناظر (التشابه) ولكن التحسينات في الطرق الحاسوبية ستواصل قيادة الجينات غير المعروفة إلى كسر (جزء) صغير جداً الذي بالإمكان اختباره تجريبياً. حتى في حالة عدم وجود وظيفة جيدة - الوصف، مختلف النهج الوراثة، مثال الطفرات الحساسة - للحرارة أو الطفرات الموسومة - بالتوقيع، لتسمية اثنين فقط (هينسل وآخرون Hensel et al., 1995) يمكن أن أن تنشئ الأساسية للبروتين وتصادق على صحته للفحص. ولاحظ روساموند وآلسوب (Rosamond and Allsop, 2000) مثال (الشكل ١٥،١)، حيث ٤,٢٨٩ جينات من الإشريكية القولونية تمت مقارنتها ضد جينيات سبعة ممرضات تسبب - المرض التنفسي (وتشمل الزائفة الزنجارية، المستدمية النزلية، والمكورة العقدية الرئوية) لتعطي ٢٤٦ جينات محفوظة عبر جميع هذه البكتيريا، ومن ضمنها ٦٨ جيناً كان غالباً من البشر. ونصف هذه الجينات (٣٤/٦٨) كانت غير معروفة الوظيفة وقت التحليل، ١٦ إتضح بأنها غير أساسية و ١٨ كانت أساسية، وتشمل الأهداف المعروفة لمضادات الكونولونات وماكروبيد الحيوية. وفي ضوء المثال المذكور، تم انتقاء ٣ من ١٨ جينات كأهداف للفحص للبحث عن أدوية مضادة بكتيرية جديدة للجهاز التنفسي.

ولقد تم الشروع في تحديد هوية ١٥٠ جيناً أساسياً لتقائية الحياة (viability) في الممرض الأساسي المكورة العنقودية الذهبية جهازياً بواسطة التعبير عن مضاد حسي رنا (antisense) RNA لاستئصال وظيفة الجين (جاي وآخرون Ji et al., 2001). ولقد تم التعبير عن المضاد الحسي رنا antisense RNA تحت تحكم المحرضات المدفوعة - بتتراسيكلين، كما أن وجود أو غياب تتراسيكلين سمح بالتعبير عن النمط الظاهري المطلوب، ويسمح بإنتعاش (استرداد) المنتسخات (النسيلات) (clones) التي توفت في وجود المضاد الحسي رنا antisense RNA. وحوالي ٣٠٪ من الجينات المكوراتية العنقودية التي ظهرت بأنها حرجة كانت غير معروفة الوظيفة، و٣٠٪ كانوا مشابهين للجينات مع الوظيفة المقترحة وال ٤٠٪ الباقين كانوا جذوع سوية (orthologs) للجينات البكتيرية المعروفة بأنها أساسية.



الشكل (١، ١٥). مثال للمنهج المستند - على الجينومات للأهداف الجديدة للأدوية المضادة للبكتيريا في عدادى الجهاز التنفسي. (بالإنجليزية من روساموند و آلزوب (Rosamond and Allsop, 2000).

داخل سلاسل الإشريكية القولونية نفسها سيكون هناك تباين كبير في الجينات التي تستطيع أن تسهم في الإمراضية. ففي *E. coli* O157: H7، ١,٣٨٧ من ٣,٥٧٤ من الجينات (بيرنا وآخرون 2001، Perna *et al.*) تختلف عن سلالة الإشريكية القولونية التي سبق تسلسلها MG1655، التي وُزعت في مئات الجزر الجينية حيث تم خلط دنا بواسطة النقل الأفقي للجينات، ومشددة على النشوء التاشيبي (recombinational evolution) في الجينات البكتيرية المعوية. وستكون هناك حاجة إلى المزيد من بيانات تسلسل الجين من سلاسل الإشريكية القولونية والتوصيف الوظيفي للعديد من ORFs التي ترمز عوامل الفوعة المفترضة (السموم، الالتصاقات، الإنزيمات، أنظمة الإفراز من النوع III ... إلخ)؛ لفرز الأهداف المفضلة في السلاسل العالية الإمراضية.

التسلسلات الجينية لسلاسل المكورة العنقودية الذهبية المقاومة للميثيسيلين مرسا (MRSA) N315 وسلاسل المكورة العنقودية الذهبية المقاومة لفانكوميسين Mu50 (VRSA) من العزلات السريرية في اليابان (كورودا وآخرون 2001، Kuroda *et al.*) (انظر الفصل السابع) سمحت برؤية واسعة لأهداف المضادات الحيوية المحتملة وكشفت عن حوالي ٧٠ مرشحاً (من أصل ٢,٦٠٠ جين) لعوامل الفوعة الجديدة أو الإضافية والتي قد تمكن سلاسل المكورة العنقودية الذهبية

المقاومة لتكوين مُمرضات فعالة للإنسان. وعلى سبيل المثال، اثنان من البيتيدوغليكوز ترانسفيلكوزيلازات الأحادي الوظيفة (PG monofunctional transglycosylases) المفترض (*sgtA* and *sgtB*) قد تكون أهدافاً لمقاييسات لمثبطات جديدة (انظر الفصل السادس عشر)، جنباً إلى جنب مع المثفل الذي من المحتمل بأن يسمح للمكورة العنقودية الذهبية للنمو عند 3.5 M ملح، المطابق الجزئي للتسمم الغلثاني بواسطة هذه البكتيريا. اثنان من بروتينات ربط القالب خارج الخلية الكبيرة من 722kD، و 421kDa ربما تتواسط التصاق المكورة العنقودية الذهبية مع نسيج صمامات القلب في التهاب الشغاف. مجموعة كبيرة من جينات السم الخارجي والسم المعوي تؤدي داخل الجزر الإمرضية في كروموسوم المكورة العنقودية الذهبية، والتي يمكن تقييمها لوظيفة مستضد فائق (ممتاز) (*superantigen*) في متلازمات الصدمة السمية (*toxic shock syndromes*)، مرض كواساكي (*Kawasaki's disease*)، ومختلاف الاستجابات الالتهابية التي تسببها هذه الإمرضيات.

وبالمثل، التسلسل الجينومي للسلسلة الفوعة من المكورة العقدية الرئوية وقد أدى ذلك إلى اقتراح أهداف جديدة، تشمل بروتينات السطح، كلا البروتينات الدهنية وتلك التي تمت ترسيبها عن طريق عمل سورتاز (*sortase*)، والتي يمكن أن تكون مرشحة لتطوير اللقاح (تيتلين وآخرون 2001، *Tettelin et al.*). وإنزيم سورتاز في البكتيريا الموجبة - لغرام الذي يرسّ تساهمياً بروتينات الغشاء الخارجي أو السطح إلى PG عند LPXTG زخارف السلسل الأولي سوف يتم مناقشته لاحقاً في هذا الفصل وفي الآونة الأخيرة أجري الأسلوب - المدفوع بالمجينات لتحديد هوية مثل هذه البروتينات مثل مرشحات الفوعة في المكورات العقدية من المجموعة A (group A streptococci) (ريد وآخرون 2001، *Reid et al.*) وتوصلت إلى ١٢ جيناً يُرمزون مثل زخارف LPXTG. نصف الجينات كانت منتظمة في مرحلة الثبات (*stationary phase*) و ٩ من ١٢ نظمت بواسطة عناصر انتساخ جين الفوعة. وأخيراً، في إظهار البروتينات الاثني عشر والتحليل المناعي مع مصّل من الأفراد الذين سبق لهم الإصابة بعداوى المكورات العقدية المجموعة A، تفاعلت ١٢ من ١٢ من البروتينات، مما يشير إلى الإظهار (التعبير) كمستضدات أثناء كورس العدوى في البشر. وهؤلاء من الممكن أن يكونوا مُرشحين لتطوير اللقاح و/ أو أهداف مضادة جراثومية. وبالإضافة إلى تكرارات الأساليب الحاسوبية لتوصيل الجينات الجراثومية الأساسية غير المعروفة مع البروتينات معروفة الوظيفة، الجهود الجينية التركيبية عالية الإنتاجية (إيرلاندين وآخرون 2000، *Erlandsen et al.*)، ميتل وجروتر (2001، *Mittl and Grutter*) تجري حالياً لحل تراكيب أشعة - إكس للمئات إلى الألوف من البروتينات وتصنيفها حسب أسلوب البناء الملاحظ وأضعافها بدلاً من التسلسل الأولي وتنبؤ التركيب الثلاثي. وفي غياب الوظائف المتوقعة للقياس، هناك مقاييسات عالية - الإنتاجية التي لا تتطلب نشاطاً معروفاً أو ربطة معروفة التي من الممكن تثبيط ربطها بواسطة المركبات المكتشفة والموجهة المحتملة. وعلى الأصح، يمكن للمرء أن يستخدم الريبطانات الفلورية أو التدوير أو الحراري أو حماية الإتلاف لإيجاد مثبطات محكمة الربط في مركب مكتبات

البروتينات غير المعروفة الوظيفة. ومن ثم يمكن اختبار الريبطات المرشحة في فحص كل الخلية لرؤية ما إذا كان هناك تأثير مبطئ للبكتيريا أو مبيد للبكتيريا. وبعد ذلك يمكن استعمال المركب الفعال بكفاية لتسريح الآلية ( مثال، جدار الخلية، البروتين، أو تثبيط بناء دنا ومن ثم التصفير (zeroing) في خطوات معينة في تلك المسارات). السبيل الثالث لتحديد هوية الأهداف المحتملة هو استخدام رقائق الصف الدقيق للمجعين البكتيري (bacterial genome microarray chips)، أو تثبيط التعبير الجيني (انظر ملك ديفيت ورزنييرج 2001، McDevitt and Rosenberg، بيرجيرو وهوتش 2001، Perge and Hoch) لتقييم مستويات Mrna الأكثر وفرة تحت مختلف الظروف، مثال، التعرض للمضادات الحيوية من مختلف الأصناف، أو المضادات الحيوية الجديدة، لكتالوج الجين الأكثر تضرراً. وعلى سبيل المثال، تأثيرات إضافة الدواء المضاد للدرن (antitubercular drug) على إظهار جين المتطفلة السلية (Mycobacterium tuberculosis) قد تم تقييمه (ويلسون وآخرون 1999، Wilson et al.) على رقائق دنا تغطي ٩٧٪ من جين الدرن وترفع إنزيمات البناء الحيوي للحمض الدهني (fatty acid synthetase) وتريهالوز دي ميكوليل ترانسفيراز (trehalose dimycolyltransferase) (انظر الشكل ١٥،٢ و ١٥،٤، بالتعريب) الملاحظة.

يصور الشكل (١٥،٢) عملية نموذجية من ثلاث مراحل للأساليب المستندة على المجينات نحو الأدوية المضادة الجرثومية، وتشمل إختيار الهدف، تحديد هوية المركبات الموجهة، والموجهات المثلى (روساموند وآلسوب 2000، Rosamond and Allsop).

وإكمالاً للنهج الجيني لتحديد الجينات الأساسية هي المقاييسات للجينات المطلوبة للممرضات البكتيرية لإنشاء العدوى في الفقاريات. ولذلك فهناك مجموعات من الجينات يمكن الاستغناء عنها في البكتيريا التي تنمو في أطباق بتري (petri plates) التي أصبحت ضرورية لهم للبقاء في العدوى في الحيوان والإنسان. وأحد الأساليب لتحديد الجينات التي تم اظهارها انتقائياً في الجسم الحي والمطلوبة للفوعة البكتيرية هي تقنية الإظهار (التعبير) في الجسم الحي (ماهان وآخرون 1993، Mahan et al.)، ماهان وآخرون 1995، Mahan et al.)، التي تثيري البكتيريا التي تشغل جينات معينة التي تساعد على البقاء والتكاثر (التضاعف) أثناء العدوى في الحيوانات (انظر شوربا وآخرون 1997، Chopra and Roberts). وعلى سبيل المثال، تشمل هذه الجينات التي تشغل البناء الحيوي وإعادة الامصاص الوجه مستخلب الحديد البكتيري بما أن المضيفات الفقارية تملك جميع الحديد متاح مقيد بين الخلية أو مرتبط مع ترانسفيرين (transferring) في الفراغات خارج الخلية. ويبقى أن نرى إذا كانت المضادات الحيوية التي تستهدف جينات الفوعة سوف تكون فعالة في العيادة وهل سيكون هناك انخفاض في تواتر تطوّر المقاومة.

لقد تم حديثاً وصف استعمال محرضات تراسيكلين لتوليد الأنماط الظاهرية المشروطة لتثبيط رنا antisense للجينات الأساسية لتشغيل ١٥٠ جيناً في المكونة العنقودية النهمية (جاي وآخرون 2001، Ji et al.) ولقد تم هندسة السلالات البكتيرية لتنظيم مستويات الإظهار للجينات المستهدفة (انظر ترايلاس ويوان 1999، Trias and Yuan)؛

لزيادة الحساسية للبروتين المظهر للمنبهات المرشحة. وقد عثر دي فيتو وآخرون (DeVito *et al.*, 2002) على صفوف لفحص سلاسل ذات هدف – تمديدت هندستها لتعظيم الحساسية للبروتينات المستهدفة مثل إنزيمات هليكازات دنا DNA helicases، البروتين الحامل لإينوا أسيل ريدكتاز (enoyl-acyl carrier protein reductase) (ACP)، دنا غيراز، دايهيدرو فوليت ريدكتاز (dihydrofolate reductase)، ومنتج جين Mura (الفصل الثالث) للتحقق الموازي.



الشكل (١٥، ٢). الأساليب الموجهة للأدوية المضادة للجراثيم. (بالإذن من روساموند وآكسوب، Rosamond and Allsop, 2006).

### نظرات جديدة لبعض الأهداف القديمة

وبينما يجري التوصل إلى أهداف جديدة بواسطة الاستقصاءات المدفوعة – بالمجنيات، الزيادة في المعلومات الجزيئية حول التراكيب الجراثيمية والماكينة الجزيئية لتوفير سبل جديدة لتطوير المضادات الجراثيمية مع التركيز على جوانب مختلفة للأهداف المعقدة والمقاييس المحسنة وتعزيز النوعية والإنتاجية.

أولاً، لاحظنا بعض المظاهر في مناطق الهدف التقليدي الموثق في البناء الحيوي لجدار الخلية، البناء الحيوي للبروتين، وتكرار وترميم الدنا ومن ثم تحديد بعض الأهداف غير التقليدية التي تستحق اهتمام جديد. ولقد راجع بول 2001، Poole، مك ديفيت وروزيبيج 2001، McDevitt and Rosenberg، وشورا وآخرون Chopra and Roberts، 1997 بعض من هذه الإستراتيجيات.

محطات البناء الحيوي لجدار الخلية

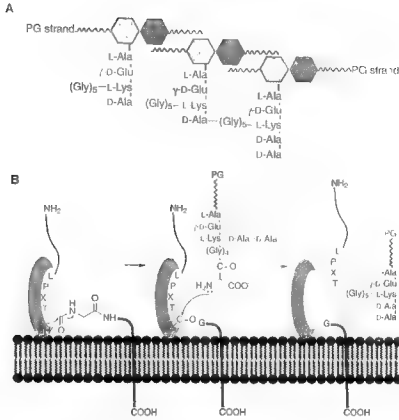
توجد العديد من التطورات في مجال جدار الخلية وغشاء الخلية التي تستحق البحث.

سورتاز المكونية العنقودية A85 المتطوري (staphylococcal sortase and mycobacterial A85)

في البناء الحيوي لطبقة الببتيدوغليكان للمكورات العنقودية المُمرضة، الجسر التبادلي للببتيد البيني (interpeptide cross bridge) ليس مباشراً بين Lys<sub>٥</sub> على سلسلة واحدة وD-Ala<sub>٥</sub> على سلسلة الببتيد المجاورة، ولكن يشمل جسر جليسين الخماسي (pentaglycine bridge) (الشكل ١٥، ٣). A. وتوضع هذه الجليسينات (glycines) في



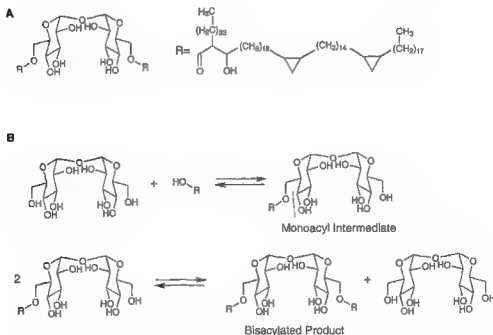
الداخل بواسطة جينات *fem* التي تعد أهداف مساعدة في MRSA (يرجر باتشي وتشريسيكي Berger-Bachi and Tschierske, 1998، على الرغم من أنه لم يتم بعد العثور على مثبطات محددة. وبروتينات السطح المستضدية الرئيسية، بروتين M من المكورة العقدية القيحية (*S.pyogenes*)، العامل المسبب لالتهاب البلعوم (pharyngitis) والآفات الجلدية، وبروتين A من المكورة العنقودية الذهبية، تربط تساهمياً مع جسر غليسيريل الخماسي (بتاغليسيريل) (pentaglycyl bridge) خلال شطر LPET -نهاية C- للبيتيد الرباعي (C-terminal tetrapeptide-LPET moiety) (نافاري وتشينويند Navarre and Scheenwind, 1999). وأظهر تسلسل مجين سلالة MRSA N315 (كورودا وآخرون Kuroda et al., 2001) كثير من بروتينات السطح التي تعد ركائز لسورتاز ويحتل بأن لها وظائف التصاق (adhesion)، تربط مع بروتينات الغالب الخارج الخلية في أنسجة المضيف وتمكن المكورة العنقودية الذهبية بأن تسبب التهاب العظم والنقي (osteomyelitis) والتهاب المفصل الإنتاني (septic arthritis). عرقلة إنزيم الإرتباط التساهمي، المسمى سورتاز، ربما تكون إستراتيجية واعدة لتقليل الفوعة في العدوى المكوراتية العنقودية. وإنزيم سورتاز، الذي تم تحديد تركيبه حالياً وبذلك قد يساعد تصميم الدواء المستند على - التركيب (الإلخوفان وآخرون Ilangovan et al., 2001)، هو ترانسبيتيداز (transpeptidase)، يعمل على الفراغ حول - الجلبة مع نوعية لطلائع بروتينات سطح - الخلية للبكتيريا الموجبة -لغرام التي لها تسلسل LPXTG بحوالي ٣٠ - ٤٠ فضالات من النهاية C للبروتين (مازامانيان وآخرون Mazamania et al., 1999). ويفلق سورتاز الطليعة (الشكل B1٥,٣) عند رابط بيتيد T-G، مطلقاً قطعة (شظية) النهاية C- ومولداً إنزيم أسيل التساهمي. ويؤسر وسيط acyl-LPXT هذا بواسطة مجموعة امينو من سلسلة Gly من خيط بيتيدوغليكان، محرراً الإنزيم لدورة ترانسبيتيداز حفازة أخرى، ويقيد تساهمياً سلسلة البروتين مع خيط البيتيدوغليكان خلال جسر غليسين الخماسي. ونظراً لأن سورتاز يستعمل نفس نوع منطق التفاعل كترانسبيتيداز الحساس للبتيسلين، فإنه ينبغي أن يكون من الممكن التوصل إلى مثبطات فعالة ومحددة لسيسيتين هيدروليز نشط -الموقع (active-site cysteine hydrolase) (تون - ذات وآخرون Ton-That et al., 1999). ولقد كشف تحليل المعلوماتية الحيوية (بالين وآخرون Pallen et al., 2001) عن توزيع واسع النطاق لسورتازات المفترضة وركائز (مواد) بروتين سورتاز في البكتيريا الموجبة - لغرام وسورتازات المتعددة داخل المجينات. ويتوقع بأن يكون لمجين المتسلسلة كوليكلورسبعة سورتازات مما يوحي إما بتداخل جزئي لوسو ترانسبيتيداز سطح - الخلية للبروتينات وإما وظائف أخرى.



الشكل (١٥،٣). عمل سورناريليد تساهمياً بروتينات الغشاء الخارجى إلى غليدات جليسين الحماسى على حيوط بيبيدوغليكان للمكورة العنقودية الذهبية (A) حيوط بيبيدوغليكان المحتوية على جليسين الحماسى، (B) الإفلاق تسلسل LPTXG في ركائز البروتين الطليعة وترانسبيديش بواسطة سورناتاز. (بالإذن من مازامانيان وآخرون 2001 Mazamanian *et al.*)

وفي منطق جزئى مشابه، ربما يكون أسيل ترانسفيراز في البناء الحيوي لجدار الخلية في المتفطرة السلية لتريهالوز داي ميكوليت (trehalose dimycolate) (الشكل ١٥،٤ A) هدف جديد واعد للمعالجة لمضادات الدرن. يكون المعقد المكون من ٣٠- إلى ٣٢- kDa ميكوليت ترانسفيرازات (mycolyltransferases) (Ag85A,B, and C) (بوينش وآخرون 2000 Puech *et al.*) مكونات بروتين رئيسية لجدار الخلية المتفطرة الشمعي. ويبدو بأنها تعمل كبروتينات رابطة لنيكتين الليفي (فيبرونيكتين) (fibronectin) لمساعدة المتفطرات لدخول الخلايا البلعمية الكبيرة (macrophages). كما أنها تنقل السلسلة-الطويلة ألفا-ألكيل ( $\alpha$ -alkyl)، وسلاسل بيتا-هيدروكسي أسيل الدهني ( $\beta$ -hydroxy fatty acyl) (الميكوليل) (the mycolyl) إلى 6-OH لتريهالوزالسكريد الثنائي (disaccharide trehalose) لتنتج ترهالوز ميكوليل الثنائي (dimycolyl trehalose)، عن طريق وسيط ترهالوز أحادي ميكوسيل (monomycosyl trehalose) (intermediates)، عند السطح الخارجي لجدران الخلية (الشكل ١٥،٤ B) (ساثيمورثي وتاكاياما Sathymoorthy and Takayama, 1987). وعرقلة النشاط الإنزيمي هذا قد يزيل حاجز النفاذية الرئيسي تجاه عدد من المضادات الحيوية.

تملك المتفطرات جسور أرابينوجالكتان (arabinogalactan bridges) التي توصل طبقة الببتيدوغليكان مع أحماض ميكوليك (الأحماض الفطرية) (mycolic acids) (بيرسا وآخرون 1995, Bersa *et al.*) الذي فيه يكون جالكتوز (galactose) في الحلقة-الخارجة فيورانوز (Gal) (free-ring furanose) بدلاً من الشكل الشائع بيرانوز ذا الست - حلقات (six-ring pyranose). الصلة بين سلاسل أرابينوجالكتان وطبقة ببتيدوغليكان يتم توفيرها بواسطة 1,3-L- rhamnosyl-GlcNAc disaccharide، والإنزيمات التي تحوّل tDTP-D-glucose إلى tDTP-L-rhamnose ربما تكون الأهداف المضادة للبكتيرية في المتفطرة السلية (ما وآخرون 2002, Ma *et al.*). يعتبر الإنزيم البنائي الحيوي UDP- جالكتوزبيرانوز ميوتاز (UDP-galactopyranose mutase) أساسى لعوشية (حيوية) الخلية في المتفطرة سميجماتيس (*M. smegmatis*). ويوجد Gal في مستضدات O- لسلاسل عديد السكريد الدهني للغشاء الخارجي من البكتيريا السالبة - لغرام. ولقد تم حل تركيب أشعة - إكس لميوتاز (mutase) من الإشريكية القولونية (ساندرز وآخرون 2001, Sanders *et al.*)، موفرًا نظرة ثاقبة لحفاز فلأوبروتين هذا واعداد المرحلة لفحص وتصميم المثبط.



الشكل (٤، ١٥). عمل الزئبق المتفطرة السلية ميكوبليز ترانسفيراز Ag85 (A) تويها لوز دائمي كيت، (B) تفاعل نقل ميكوبليز.

### GlmU: الإنزيم ثنائي الوظيفة المؤكد UDP-GlcNAc

لاحظنا في الفصل الثالث بأن فوسفوميسين يثبط الإنزيم الأول في مسار البناء الحيوي لببتيدوغليكسان. وMurA الذي يحفز عملية إينول بيروفيشن (enolpyruvylation) لمسار تصنيع سكر نيوكليوسايد UDP-GlcNAc. وينتج UDP-GlcNAc في تسلسل - خطوتين (GlmU) من جلوكوسامين- P-1 (glucosamine-1-P)، الذي بدوره يتولد من المستقبل الأولي fructose-6-P (بواسطة الأمانة من المادة المشاركة جلوتامين (GlmS) وبعد ذلك تحويل glucosamine-6-P إلى glucosamine-1-P بواسطة GlmM mutase (للمرجعة، انظر فان هيجينورت 2001b). يعد الإنزيم ثنائي الوظيفة في العديد من البكتيريا، مع حقلين مستقلين، الذين يحفزا أولاً N-acetylation، عن طريق acetyl-CoA، ومن ثم نقل الشطر UDP فوق ١- فوسفيت لينتج UDP-GlcNAc (جيهرنج وآخرون Gehring et al., 1996). وبسبب أن UDP-GlcNAc هو المستقبل الرئيس، فالجين الأساسي هو *glmU*، وفي البكتيريا السالبة- لغرام يعد UDP-GlcNAc مستقلب نقطة الفرع، ويعمل كطليعة لكل من البناء الحيوي لببتيدوغليكسان ومكونات الغشاء الخارجي: الدهن A وسلاسل مستضد O- . وحتى الآن لم يتم العثور على مثبطات نوعية فعالة لأي من نشاط حقل أسيل ترانسفيراز أو نشاط حقل نقل يوريديليل (uridylyl) لـ *GlmU*. ولقد تم وصف التركيب الكريستالي (crystal structure) للملوث (trimer *GlmU*) للمكورة العقدية الرئوية (كوستريوا وآخرون Kostrewa et al., 2001)، مميّزاً طرق التركيب/الوظيفة وكذلك الفحص.

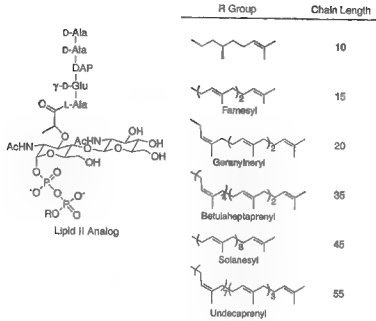
### ترانسغليكوزيلازات (Transglycosylases)

في حين أنه كان معروفاً لسنوات بأن ترانسغليكوزيلازات كانت عناصر حاسمة للمرحلة - الأخيرة من البلمرة (late-stage polymerization) لوحدات ثنائي سكريل الببتيد الخماسي (disaccharyl pentapeptide) إلى خيوط ببتيدوغليكسان الموجودة، فقد كانت أقل دراسة كصنف؛ بسبب عدم توفر المواد للمقايسة؛ وبسبب طبيعتها المرتبطة بالغشاء، الذي جعل تنقيتها وتوصيفها صعباً (انظر فان هيجينورت 2001a، للمرجعة). ولقد بين تسلسل الجين أربعة ترانسغليكوزيلازات في الإشريكية القولونية وأعداد مقارنة في الممرضات الأولية، بعضها كترانسغليكوزيلازات/ترانسببتيدازات ثنائية الوظيفة وبعضها كترانسغليكوزيلازات أحادية الوظيفة. وبعض التقارير الأخيرة، التي تسلط الضوء على مجالين من التطور تجلداً الإشارة إليها.

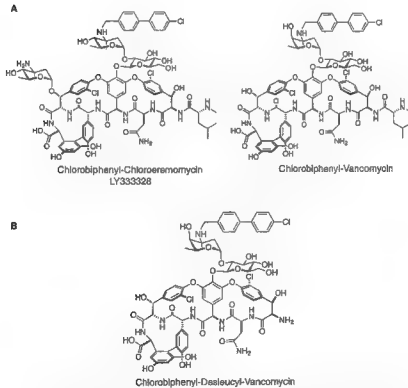
أولاً، الطرق الكيميائية الإنزيمية المشتركة من إس. والكر (S.Walker). وزملائه، مستعملين مناظرات الدهن I (الفصل الثالث) MurG glycosyltransferases، قد سمحت بالوصول إلى lipid-disacchride-pentapeptide lipid II analogs المتنوعة (الشكل ١٥.٥) التي يمكن أن تستخدم لفحص ترانسغليكوزيلازات المرتبطة - بالغشاء (بي وآخرون Ye et al., 2001). وعلى وجه الخصوص، سلسلة الدهن C<sub>33</sub> مع وصلات 4-cis-olefinic كانت نشطة، كانت أقل عرضة للجميع من سلسلة أيزوبرينويد C<sub>33</sub> isoprenoid الطبيعية، واقترح بأنه من الممكن إنشاء بروتوكول

فحص مفيد لاختبار المواد والمثبطات. وستيساسات لمناظرات الدهن II الإضافي (كوديك) واوتفوس Cudic and (Otvos, 2002) والدهن II نفسه (فان نيوننهز وآخرون Van Nieuwenhze *et al.*, 2002) سوياً مع تصميم المقاييسات (الاختبارات) المحسن (شوارتز وآخرون Schwartz *et al.*, 2001) توعد بتحريك الحقل. والوجه الثاني هو أن المنتج الطبيعي مولينوميسين (moenomycin) (الفصل الثالث) تثبط ترانسغليكوزيلاتات، ومقاييسات الإزاحة (التبديل) من السهل إنشائها للفحص (فولير وهولتجي Vollmer and Holtje, 2000). لاحظنا في الفصل الثالث عشر بأن تيكلالانين هو غليكوبيتيد دهني طبيعي، أسل على مجموعة غلوكوسامين أمينو (glucosamine amino group) على قمة غليكوبيتيد (الشكل ١٣،٢٦). مشتقات *N*-aryl النصف إصطناعية، مثل كلورويفينيل فانكوميسينات (chlorobiphenyl vancomycins) وكلورواروميسينات (الشكل ١٥،٦ A) هي حوالي ٨٠-ضعفاً أكثر نشاطاً ضد الميكروبات المعوية المقاومة-لفانكوميسين (VRE) من الغليكوبيتيدات الأيوية. ونظراً لأن *N*-aryl glycopeptides لا تربط *N*-acyl-D-Ala-D-Lac أكثر إحكاماً من فانكوميسين أو كلورواروميسين، فقد افترض بأنهم يبحثون عن هدف ثان (جي وآخرون Ge *et al.*, 1999، سن وآخرون Sun *et al.*, 2001). وفي الواقع، فتدمير موقع ربط *N*-acyl-D-Ala-D-Lac بواسطة إزالة *N*-MeLeu (الشكل ١٥،٦ B) يحافظ على النشاط ضد VRE. ولقد اقترح كاهني وزملاء العمل بأن نترانسغليكوسيلاتات يمكن أن تكون الأهداف الإضافية (جي وآخرون Ge, *et al.*, 1999)، الفرضية التي من شأنها فتح سبل جديدة لانهكاس VRE. الجين المسئول عن حساسية خلايا الإشريكية القولونية لمشتقات الدهن السكري (glycolipid) من فانكوميسين ولكن ليس فانكوميسين نفسه، كما تم تأكيده في الآونة الأخيرة (إيجيرت وآخرون Eggert *et al.*, 2001)، مما يصادق على الأساس الجزئي للتمييز. وكذلك، مشتقات *N*-aryl من فانكوميسين الراهبة للماء النشطة ضد VRE والتي تثبط نشاط ترانسغليكوزيلات في المختبر (سينها روي وآخرون Sinha Roy *et al.*, 2001) قد استعملت في استشراب الانجذاب (affinity chromatography) لعزل فرعية من بروتينات غشاء الإشريكية القولونية، وتشمل البروتين المرتبط بالبنسيليّن PBP3, PBP5, PBP6 وPBP1B، متناسقة مع ترانسغليكوزيلاتات كأهداف.

القدرة على إنتاج مكتبات كبيرة من الكربوهيدرات بواسطة الاصطناع (synthesis) (يزمان وآخرون Baizman *et al.*, 2000) قد يؤدي إلى ربطات (ligands) ذات نوعية وفعالية لتثبط ترانسغليكوزيلاتات. تركيب ترانسغليكوزيلاتات الانحلالي (الذوياني) من الإشريكية القولونية، SLT<sub>35</sub>، الذي يشارك في إطلاق بيتيد مورايميل اللامائي (anhydromuramyl peptide) بواسطة الهجوم بين الجزئيات لـ  $C_6-CH_2OH$  على رابط  $C_1$  غليكوسيد ( $C_1$  glycoside) (link) أثناء الإشارات المستحثة - بيتتا لكتاميز (فان أسيلت وآخرون van Asselt *et al.*, 2000)، قد تم حله وربما يكون نموذجاً بدلياً (prototype)؛ تصميم ونشوء مثبطات غليكوزيلاتات.



الشكل (١٥, ٥). نظرات ركازة الدهن II المخلدة للمقابلة ترانسفليكوسيلات الفشاء.



الشكل (١٥, ٦) نظائر كلوروفيل من كلوروليدوميسين وفانكوميسين الشطة ضد VRE: (A) المركبات النوعية، ضد (B) أربل جليكوبيبتيدات الشطة ضد VRE مع تدمير موقع الربط د-الآئين-د-الآئين D-Ala-D-Ala.

### مضادات البناء الحيوي للبروتين

في المنطقة المستهدفة الكلاسيكية الثانية للأدوية المضادة للبكتيرية، وتثبط تصنيع البروتين، هناك أيضاً عدد من الفرص لمزيد من البحث عن أهداف مضاد حيوي جديدة.

#### المضادات الحيوية المستهدفة ضد الريبوسوم

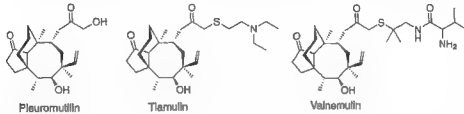
من المؤكد بأن تراكيب أشعة-إكس للوحدات الفرعية الريبوسومية 30S و 50S ومعقدات 70S الكاملة (الفصل الرابع) تساعد في تطوير المقايسة ونشوء مضادات حيوية جديدة التي ترتبط عند كل من المواقع الكلاسيكية والمواقع غير الكلاسيكية في أي من جزيئات 16S أو 23S rRNA، التي تشكل معاً ثلثي كتلة الريبوسوم.

تشمل منطقة الحقل V من 23S rRNA مركز ببتيد ترانسفيراز (ناقلة الببتيد) من الموقع ببتيد ترانسفيراز (ناقلة الببتيد) إلى بداية نفق الخروج لسلسلة عديد الببتيد الوليدة (بان وآخرون 2000، Ban *et al.*، نيسين وآخرون 2000، Nissen *et al.*) ويشمل موقع الربط لكل من ماكروليد إريثروميسين العضوية -١٤ وتيلوسين ماكروليد الحلقة العضوية -١٦ (دوثويت وآخرون 2000، Douthwaite *et al.*، بولسين وآخرون 2000، Paulsen *et al.*).

كما أنها تتداخل جزئياً مع المضادات الحيوية الأخرى مثل سترينوجرامينات ولينكوساميدات، وعلى سبيل المثال، كلنداميسين. التصميم المستند على - التركيب للمضادات الحيوية الجديدة التي تملأ واحداً أو أكثر من مواقع رنا الفرعية هذه ينبغي أن تكون مشروع إنتاجي. ويبلغ طول نفق خروج الببتيد حوالي 100 Å (انظر نيسين وآخرون 2000، Nissen *et al.*)، مبطنة معظمها برنا من الحقل I إلى V من 23S rRNA ولكن أيضاً مع بعض الإحتكاكات من البروتينات L22، L4، وL39. وإذا ما كان بالإمكان إيجاد المثبطات التي تملأ النفق فذلك غير واضح، ولكن يجدر الذكر بأن الدواء المضاد للالتهاب غير الستيرويدي (nonsteroidal) فلوريبروفين (flurbiprofen) يعوق النفق في داخل الموقع النشط للخمائر الأكسجينية الدورية لبروستاجلاندين سيكلوكسيجينازات (prostaglandin cyclooxygenases) (سيلينسكي وآخرون 2001، Selinsky *et al.*).

يبدو بأن مايكروليد كاربوميسين (carbomycin) يرتبط بشكل مختلف قليلاً عن إريثروميسين بما أن، خلافاً للإريثروميسين، فإنه يثبط تفاعل ببتيد ترانسفيراز (ناقلة الببتيد) الفعلي في مقايسات نقل أمينو أسيل إلى بيوروميسين (بولسين وآخرون 2001، Paulsen *et al.*). تصل سلسلة السكر الممتدة على C-3-OH من هيكل ماكروليد كاربوميسين للخلف نحو مركز ببتيد ترانسفيراز (ناقلة الببتيد) رنا (هانسين وآخرون ٢٠٠٢). إثتان من المضادات الحيوية المستخدمة في الطب البيطري، تيامولين وفالينيمولين (tiamulin and valnemulin)، المشتقات الشبه إصطناعية للمنتج الطبيعي بليوروميوتيلين (pleuromutilin) (الشكل ١٥،٧)، قد يكونا نقطتا البداية لتحديد هذه الأهداف أكثر. ويظهر تيامولين وفالينيمولين آثار الأقدام التي تؤثر في النيوكليوتيدات في الحقل V من 23S rRNA

التي تورطت كجزء من مركز بيتيديل ترانسفيراز (ناقلة الببتيديل) الديناميكي المتحرك (بولسين وآخرون Paulsen *et al.*, 2001)، وكذلك يعرقلها بالكامل تكوين رابط الببتيد. وهؤلاء يتنافسون مع كاربوميسين ولكن ليس إريثروميسين، مما يوحي بأن كلاً من بليوروميوتيلينات وإريثروميسين بإمكانهما الربط في الوقت نفسه في المواقع المجاورة ولكن غير المتداخلة. وربما يتداخل بليوروميوتيلينات مع بريستيناميسين (بولسين وآخرون Paulsen *et al.*, 2001)، مشيراً بأنه سيكون هناك تحليل مثير في خريطة التركيب - الدقيق للمضادات الحيوية في وحول مركز بيتيديل ترانسفيراز (ناقلة الببتيديل) للوحدة الفرعية 50S مع احتمال تصميم تراكيب تجميعية للمضادات الحيوية.

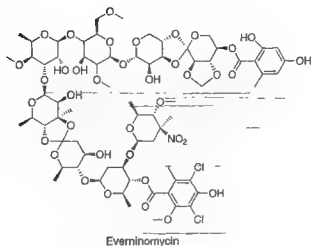


الشكل (١٥،٧). تراكيب أعضاء عائلة بليوروميوتيلين التي تعرقل مركز بيتيديل ترانسفيراز (ناقلة الببتيديل) على الريبوسوم.

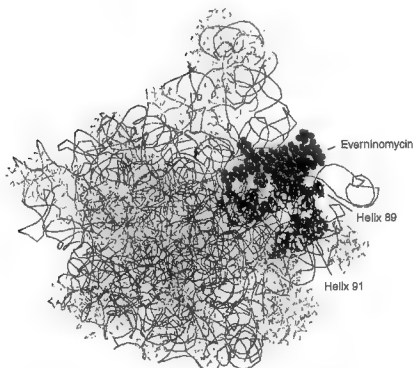
المثال على وجود مواقع الريبوسوم غير الكلاسيكي لربط المضاد الحيوي يتم توفيره من قبل الدراسات الحديثة على المنتج الطبيعي إيفرنينوميسين (everninomycin) (الشكل ١٥،٨)، عضو من أحادي السكريد أورثوسوميسينات (oligosaccharide orthosomycins) (بيلوفا وآخرون Belova *et al.*, 2001).

يعد إيفرنينوميسين سكريد ثنائي (octasaccharide) مغطى عند كلا النهايتين بواسطة إسترات فينولييك أريل كاربوكسيليك (phenolic aryl carboxylic esters). ويرتبط مع 23S rRNA بعيداً عن مركز بيتيديل ترانسفيراز (ناقلة الببتيديل) الذي يعد الهدف للميكروبيدات وستربتوجرامينات. واستخدمت الطفرات المقاومة لتحديد ربط إيفرنينوميسين عند الحلقات ٨٩ و ٩١ (الشكل ١٥،٩) وربما تعرقل ربط بروتين عنصر البدء IF2، الذي يجلب المبادر (initiator) فورميل ميثيونيل (Met) (Tna) (formylmethionyl). ولاحظ بيلوفا وآخرون Belova *et al.*, 2001 بأن هذا موقع متميز من المضادات الحيوية المعروفة التي ترتبط - بالريبوسوم والتي تستهدف مراكز بيتيديل ترانسفيراز وموقع الخروج لسلاسل الببتيد الناشئة. وقد يكون هذا الموقع هدف جيد للجزيئات الصغيرة الأخرى، التي بالإمكان قياسها بواسطة إزاحة إيفرنينوميسين. ويستعمل إيفرنينوميسين كمحرض لنمو الحيوان؛ بسبب أن سميته قد حدث تطوره في الإنسان، ولكن المتغيرات غير السامة المستندة على معلومات من هذا القبول ربما تكون ممكنة.





الشكل (١٥,٨). تركيب إيفرنينوميسين.

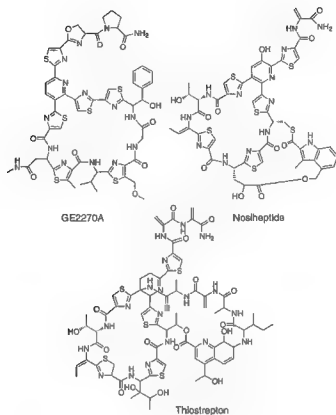


الشكل (١٥,٩). موقع ربط إيفرنينوميسين على 23S rRNA. (بالإذن من مازمانيان وآخرين 2001 Mazmanian et al.).

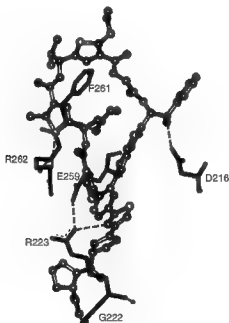
الصف الثاني من المنتجات الطبيعية التي تعمل كمضادات حيوية بواسطة إعتراض واحد من البروتينات التي تعمل كشريك للريبوسوم أثناء البناء الخيوي للبروتين هو صف ثيوپبتيد (thiopeptide class)، ممثلاً بواسطة

GE2270A، ثيوستريبتون (thiostrepton)، ونوسيهيبتيد (nosiheptide) (الشكل ١٥.١٠) (انظر سينها روي وآخرون Sinha Roy *et al.*, 1999، للمراجعة). تحتوي الببتيدات غير الريبوسومية هذه على فضالات Cys و Ser، والتي تم إزالة الهيدروجين من الحلقة (cyclodehydrated) وإزالة الهيدروجين (dehydrogenated) لإيجاد نظم حلقة ثيازول وثيازولين، وأوكسازولين (thiazole, thiazoline, and oxasoline ring systems) التي تدخل الصلابة. يستهدف ثيوستريبتون ونوسيهيبتيد 23S rRNA في المنطقة A<sub>1087</sub>، إضافة إلى عرقلة ربط عنصر الإطالة EF-G إلى الريبوسوم عند موقع ببتيد ترانسفيراز (ناقلة الببتيد). ويعرقل ثيازول ببتيد GE2270A نقل ببتيد -المتواسط بالريبوسوم بواسطة EF-Tu-GTP، بروتين تشابيرون (chaperone protein) الذي من شأنه أن يوصل aminoacyl-tRNAs إلى رامزات mRNA عند موقع ببتيد ترانسفيراز (ناقلة الببتيد) (انظر الفصل الرابع). ويرتبط المضاد الحيوي مع معقد EF-Tu complex، ويشدد ربط GTP، يباطئ عمل GTPase، ويمنع تكوين معقد EF-Tu-GDP القابل للإطلاق، مماطلأ عملية إطالة ببتيـد الريبوسوم (الشكل ١٥.١١). ولقد تم تحديد تركيب أشعة-إكس لمعقد EF-Tu-GE2270A (أنبورج وبارميجياني 1991، Anborgh and Parmeggiani)، وبشكل عام، يوفر EF-Tu مواقع متعددة للتفاعل مع المضادات الحيوي الأخرى، وتشمل بولفومييسين وكيرومييسين (pulvomycin and kirromycin) (انظر سينها روي وآخرون Sinha Roy *et al.*, 1999). وتشير هذه النتائج بأن البرنامج الأمثل المستند - على التركيب ضد EF-Tu ربما يكون مجدياً. اتباعاً لموضوع المضادات الحيوية التي تستهدف تسلسلات رنا، فقد إستعرض سوتشيك وونج (Suheck and Wong, 2000) السبل الحديثة لتصميم واختبار الجزيئات الصغيرة التي تتفاعل مع تسلسلات معينة في rRNA و mRNA.

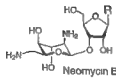
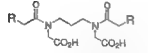
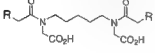
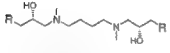
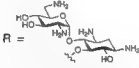
يقدم تفاعل أمينوغليكوسيدات مع 16S rRNA وكلاهما من أشعة - إكس ودراسات التصوير بالرنين المغنطيسي النووي (nuclear magnetic resonance imaging studies)، نموذج مستند - على التركيب لتصميم جزيئات جديدة. ولقد إستعمل في النهج التكميلي، وونج وزملائه (سوتشيك وآخرون Suheck *et al.*, 2000) نيامين تتر-أمينو داي سكاريد (neamine tetra-amino disaccharide) (الشكل ١٥.١٢) كعنصر أساسي لتحقيق محددات الربط لـ 16S rRNA. وارتبطت مثنويات نيامين (dimers of neamine) لتنتج أمينوغليكوسيد إصطناعي ثنائي التكافؤ مع خواص مبقية على الإنجذاب العالي لـ rRNA والتميز المنخفض بواسطة الإنزيمات - المعدلة للأمينوغليكوسيد (-aminoglycoside-modification enzymes). وتتيح روابط N,N'-methyl diamine linkers البسيطة (الشكل ١٥.١٢) نشاط ربط ومع ذلك كانت مواد فقيرة لتعديل أسيل ترانسفيرازات (acyltransferases) وفوسفوترانسفيرازات (phosphotransferases) التي تبطل نشاط أمينوغليكوسيدات. وهذه نقطة بداية واعدة للسبل الجديدة لمحاكاة أمينوغليكوسيد.



الشكل (١٥، ١١). أمثلة على صنف ليوبتييد من المضادات الحيوية التي تخمري على حلقات ثيازول وأوكسازول.



الشكل (١٥، ١١). موقع الربط لفيوبتييد GE2270A على عنصر الإطالة E-F-Tu (بالإذن من هيفرون وجورانك (Heffron and Jurank, 2000)).

	16S RNA A-Site $K_d$ ( $\mu$ M)	<i>E. coli</i> MIC ( $\mu$ M)	AAC-(8) $K_m$ ( $\mu$ M)	APH-(2*) $K$ ( $\mu$ M)
 Neomycin B	0.2	3.1	$3.84 \times 10^5$	$1.9 (K_m)$
	1.1	31	$1.8 \times 10^4$	0.78 (K)
	0.8	125	$2.26 \times 10^4$	0.15 (K)
	0.04	8.25	$9.26 \times 10^8$	0.94 (K)
 R = Neamine				

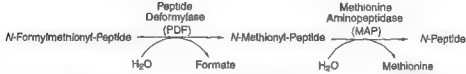
الشكل (١٢، ١٥). المتغيرات الاصطناعية من مشتقات نيامين مثل محاكيات الامينوغليكوسيد المستهدف - ر.١.

### بيبتيد ديفورملاز وميثيونين أمينوبيبتيداز

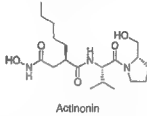
#### (Peptide deformylase and methionine aminopeptidase)

يبدأ البناء الحيوي للبروتين البكتيري مع *fMet* tRNA كبادئي لأمينوأسيل-tRNA، مرافق لمركز بيتيديل ترانسفيراز (ناقلة البيتيديل) على الريبوسوم بواسطة بروتين تشابرون IF2 الملاحظ سابقاً. ويكفل فورميلة -N- formylation لمجموعة ميثيونيل أمينو (methionyl amino group) بأن *fMet* يستطيع أن يعمل فقط كمانع وليس كمستقبل في تكوين رابطة الببتيد، فارضاً اتجاهية على عملية البدء. وبمجرد ظهور سلسلة الببتيد المطيل من الريبوسوم، تزال مجموعة N-formyl إنزيمياً بواسطة الإنزيم المعروف ببيتيد ديفورملاز (peptide deformylase) (هنتينجتون وآخرون 2000، *Huntingtong et al.*، راجاجريالان وآخرون 1997، *Rajagopalan et al.*) (الشكل ١٥.١٣). وبعد ذلك تزال النهاية-N ميثيونين (N-terminal methionine) بالتحليل المائي بواسطة ميثيونين أمينوبيبتيداز (methionine aminopeptidase). وبعد كلا من ديفورملاز وأمينوبيبتيداز أساسيان بواسطة تحليل حذف الجين (*gene deletion analysis*) في الإشريكية القولونية، مما يثير الإحتمال بأن هذين الإنزيمين هدفين صالحين لمضادات جراثومية (بكتيرية). وديفورملاز بيتيداز معدني (ميتالوبيبتيداز *metallopeptidase*)، يثبط بواسطة ريبطات معدن - مستخلبة (metal-chelating ligands) (أبفل وآخرون 2001، *Apfel et al.*، تشين وآخرون 2000، *Chen et al.*) مثل هيدروكسامات (hydroxamate) الموجودة في داي بيتيديل هيدروكسامات أكتينونين (dipeptidyl hydroamate)

actinomycin (الشكل ١٥،١٤) (تراياس 2001, Trias) وكثير من النظيرات. وهذه المركبات هي مثبطة للبكتيريا بدلاً من قاتلة (مبيدة) للبكتيريا وتظهر الطفرات في تكرارات عالية، على الرغم من أن هؤلاء يميلون إلى التقليل من ملاءمة الطفرات. ويبقى أن نرى على أي مدى ستكون فعالية مثبطات بيتيد ديفورميلاز.



الشكل (١٥،١٣) عمل بيتيد ديفورميلاز ومثولين أمينوبيدياز لتشليب فضلات tMet عند نهاية N من البروتينات البكتيرية.



الشكل (١٥،١٤). المنتج الطبيعي أكتينولين هو مثبط مستقلب - معدني لبيتيد ديفورميلاز.

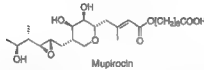
#### ميوبيروسين (mupirocin) وغيره من مثبطات أمينو أسيل-tRNA

##### سنشيتاز (aminoacyl-tRNA synthetase)

يعد ميوبيروسين المنتج الطبيعي (الشكل ١٥،١٥) الذي يمنع دمج إيزوليوسين (isoleucine) في البروتينات بواسطة عرقلة Ile-tRNA synthetase. II-e-tRNA synthetase. ويسوق بوصفه عاملاً مضاداً جرثومياً موضعياً بأكثروبان (Bactroban). وقد تم تحديد التركيب للمعقد ميوبيروسين مع المكونة المعنقدة الذنبية Ile-tRNA synthetase (سيلفيان وآخرون Silvan *et al.*, 1999)، مما يصادق على ربطه عند الموقع النشط، منافساً ضد ربط Ile-AMP.

ولقد أجريت برامج الفحص ضد tRNA synthetases الأخرى، لكل من البكتيرية وسويات النواة لأغراض التحكم، ولكن لا يوجد نظريات متقدمة للتقييم السري. وهذا ليس لعدم وجود نشاط ضد tRNA synthetases المعزولة. وعلى سبيل المثال نظريات كبروكسيليك من تيروسين تثبط تيروسيل tRNA سينثيتازات (tyrosyl-tRNA synthetases) مع فعالية تبلغ جزءاً من ألف مليون جزئي غرامي (جارفيست وآخرون Jarvest *et al.*, 2001)، ويشمل المنتج الطبيعي SB-219383، ويبلغ التركيز المثبط ٥٠٪ nM (كيو وآخرون Qiu *et al.*, 2001)، والبعض ١٢،٠٠٠-أضعاف أقل من  $12 \mu\text{M}$  ل-L-Tyr. ولقد تم حل تركيب أشعة - إكس للمعقد المثبط - الإنزيم لسلط الأضواء على تصميم المثبط الآحق (كيو وآخرون Qiu *et al.*, 2001). ولقد تم تحضير نظريات إستر من وسائط أمينو

أسيل-AMP، وتشمل III-esters من هيدوكسامات مع استبدال حلقة الأدينين بواسطة أيزوفانيلين (isovanillin) ليعطي نظير Ile-AMP مع تراكيز مشبعة ٥٠٪. جزيئية غرامية دقيقة (micromolar) قليلة ضد Ile-tRNA synthetase (لي) وآخرون (Lee *et al.*, 2001). يثبط جلوتاميل-γ- بوروناتات (glutamy-γ-boronates) Glu-tRNA<sup>Gln</sup> amidotransferase (Decicco *et al.*, 2001). ومع ذلك، فكل هذين النوعين بفعاليات جزيئية غرامية دقيقة - منخفضة (ديسيكو وآخرون). ومن ذلك، فكل هذين النوعين من المثبطات لم تُظهر أي فعالية مضادة للبكتيريا؛ لعدم الإمتصاص إلى داخل الخلايا البكتيرية. ومشكلة إصا مثل المثبطات الأليفية للماء ما تزال دون حل.



الشكل (١٥،١٥). ميوروسين: مثبط Ile-tRNA synthetase.

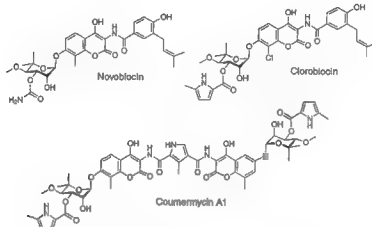
### تكرار دنا ومثبطات الترميم (الإصلاح)

#### دنا غيراز: كوينولون الجديد ومثبطات غير الكوينولون (nonquinolone inhibitors)

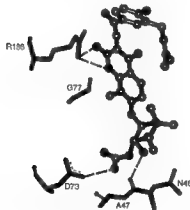
يعد دنا غيراز الهدف الكلاسيكي لمضادات كوينولون البكتيرية، كما ذكر في الفصل الخامس، ويستمر الكوينولون الجديد قيد التطوير (انظر بوش وماسيلاج 2000، Bush and Macielag)، ويشمل ليفوفلوكساسين (levofloxacin) للمكورة العقدية الرئوية المقاومة - للبنيسلين في الإلتهابات الرئوية المكتسبة من - المجتمع. وقد تمت الموافقة على تروفافلوكساسين (trovafloxacin) في ١٩٩٨ م ولكنه قيد في الاستخدام في ١٩٩٩ م؛ بسبب سمية الكبد (liver toxicity).

وتمت الموافقة على ٨-ميثوكسيكوينولونز موكسيفلوكساسين (8-methoxyquinolone moxifloxacin) في ١٩٩٩ م، ويهدف إلى تقديم النشاط المعزز ضد المكورات العنقودية لمعالجة الإلتهاب الرئوي المكتسب من - المجتمع، التهاب القصبات (bronchitis)، والتهاب الجيوب الأنفية (sinusitis) (بونسون وبارت 2001، Bronson and Barrett، كويون وماسترتون 2000، Cubbon and Masterton). وتحتوي متغيرات كوينولونات على رأس الجسر النيتروجين، منتجاً نظم حلقة ٢-بيريدون (2-pyridon ring systems) التي تحافظ على الفعالية ضد بعض من أكثر طفرات غيراز شيوعاً ذات المقاومة للكوينولون (تشو 1999، Chu). ولقد وُجد أن كلينايفلوكساسين (clinafloxacin) وسيتافلوكساسين (sitafoxacin) يكونا فعالين ضد كل من طفرات GyrA (الوحدة الفرعية غيراز) وParC (الوحدة الفرعية تويوايزوميراز IV) (أونوديرا وآخرون 1999، Onodera *et al.*، شميتر وآخرون 2000، Schmitz *et al.*). وهناك أنواع أخرى من الجزيئات التي تقدم المرشدين للرابطات المثبطة ل دنا غيراز و / أو المشابه تويوايزوميراز النوع II، تويوايزوميراز IV.

المنتجات الطبيعية كومارين (coumarin) (الفصل الرابع عشر) المصنعة بواسطة المتسلسلات-نوفويوسين، كلورويوسين (chlorobiocin)، والمركب المثبتي كومرميسين (الشكل ١٥،١٦) في الواقع يربط واحد إلى ثلاثة رتب من الحجم الأكثر إحكاماً ( $K_i = 10^{-7}$  to  $10^{-9}$  M) إلى غيرازيدلاً من الكوينولونات النموذجي ( $10^{-6}$  M)، مع كومرميسين ربما يمتد فوق الوجداتين الفرعيتين GyrB في الرباعي  $A_2B_2$  tetramer ليعطي التثبيط الأقصى فعالية. ولقد تم تبلور نوفويوسين وكلورويوسين معاً مع كسر N-terminal 24-kDa من الوحدة الفرعية GyrB من الإشريكية القولونية (الشكل ١٥،١٧) التي تتداخل مع موقع حلقة ادينين لـ ATP، متناسقة مع التثبيط التنافسي الملاحظ لربط ATP (انظر هولديجت وآخرون 1997، Holdgate *et al.*، لويس وآخرون 1996، Lewis *et al.*، تساي وآخرون 1997، Tsai *et al.*).



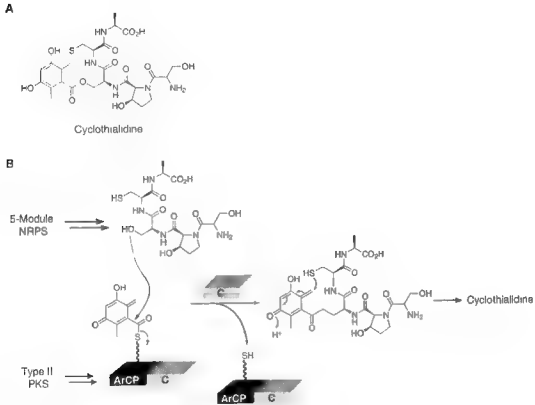
الشكل (١٥،١٦). مثبطات أمينوكومارين الطبيعية لـ دنا غوازد.



الشكل (١٥،١٧). ربط نوفويوسين مع موقع ATP على الوحدة الفرعية GyrB مع عرض التفاعلات الرئيسة المختارة. (بالإذن من لويس وآخرون 1996، Lewis *et al.*).

في حين أن كوماريات كانت ذات قيمة كبيرة في فرز وظائف حقل غرياز، لكنها لم تعج سريريا، ربما بسبب مزيج من الذوبان الضئيل، الفعالية الضعيفة ضد البكتيريا السالبة - لغرام (الإختراق الضعيف خلال حاجز العشاء الخارجى) وسمية الفقاريات. وربما تكون مسارات المنتج الطبيعي هذه (الفصل الرابع عشر) قابلة للمعالجات البنائية الحيوية الإندماجية لزيادة التنوع الهيكلي لفصل الأنشطة المضادة البكتيرية المطلوبة من الآثار الجانبية غير المرغوب فيها.

منتج طبيعي آخر، مرة أخرى من المتسلسلات دائمة الإنتاج، التي تُظهر نشاط قوي ضد دنا غرياز النفي في المختبر هو الببتيد الخماسي ثياليدين الحلقي غير الريبوسومي (pentapeptide cyclothialdine) (الشكل ١٨، ١٥A) ولقد تم أسر السلاسل الجانبية  $\text{CH}_2\text{OH}$  من Ser و  $\text{CH}_2\text{SH}$  من Cys في رابط إستر ورابط ثيوإيثر، بالترتيب، بواسطة شطر 2,6-dimethyl-3,5-dihydroxybenzoyl moiety لإيجاد ماكرولاكتون العضو-١٢ الذي يوفر القيد المنظم الفراغي ملء مطابق لمشط - غرياز من سيكلوثياليدين (الشكل ١٥، ١٨B).



الشكل (١٥، ١٨). (A) ببتيد ماكرولاكتون سيكلوثياليدين هو ملشط دنا غرياز، (B) الطريق المقترح لتخليق طبيعة الببتيد الخماسي غير الريبوسومي الحلقي.



وما يدعو للإستغراب أن البلور المشترك (cocystal) من سيكلوثياليدين مع شذفة ر نهاية-N من GyrB كذلك لها تداخل في موقع ATP، يبين ذلك أن كومارينات ودييسي بيتيد الحلقي (cyclic depsipeptide) لها طرق مماثلة لشغل ذلك حيز الربط في حلقة بيورين من ATP (لويس وآخرون 1996, Lewis *et al.*). وسيكلوثياليدين ليس فعالاً ضد البكتيريا السليمة بسبب الإختراق الضعيف، ربما بسبب مكونات الببتيد القطبية (polar peptide constituents). وكما وصف في الفصل السادس عشر، فببتيد ثيوليثر ماكرولاكتون الغيريوسومي هذا قد يكون مساهم في المعالجة البناء الحيوي الانعماجي.

المنتج الطبيعي الثالث الذي يشط دنا غيراز، مثل أدوية كوينولون، يؤدي إلى التراكم غير العكوس لوسيط دنا-غيراز المضاعف الإنفلاق التساهمي وهو ٤٣-فضالة ببتيدي ميكروسين B17 (43-residue peptide microcin B17) (الشكل C ٥,٥ و ١٤,١٤) المنتج بواسطة سلالات مُعَيَّنة من الإشريكية القولونية كمضاد ببتيدي حيوي. وكما في الفصل الرابع عشر، يرمز ميكروسين B17 ريبوسومياً كطليعة ٦٩- حمض أميني من حيث فضالات ٢٦ للنهائية - إن تغلق بعد ان قد تم تعديل ١٤ من ٤٣ (سنة Gly، أربعة Ser، أربعة Cys) بعد الإنتساخ إلى أربعة أوكسازول وأربعة حلقات ثيازول. ويوجد إثنين (ترادف يس الحلقات المتغايرة (4,2 tandem bis heterocycles) شيدت في عملية النضوج هذه ويبدو بأن هذه محددات هامة لنشاط المضاد الحيوي (سينها روي وآخرون 1999, Sinha Roy *et al.*). توجد الإشريكية القولونية المقاومة - ميكروسين مع طفرات عند النهاية C- من GyrB، وجيريز أظهر في الاونة الحيرة بأن يكون هدف القتل (هيدل وآخرون 2001, Heddle *et al.*). وهناك تشابه ميكانيكي لعمل كوينولونات على غيراز، ولكن يظهر ميكروسين إعتداد مطلق على ATP أو نظير ATP غير القابل للإنفلاق ليحث على تراكم وسيط إنزيم - دنا المنفلق. والتفتيش عن تسلسل ميكروسين B17 يشير إلى وجود لفائف بوليجليسين عشوائية (polyglycin) (random coil) متخللة بواسطة حلقات متغايرة، من المرجح بأن تكون أشطار ربط دنا وبيوتين. ومن غير المعروف ما هو الحد الأدنى لشطر ميكروسين الذي يمنع إهماد غيراز أو ما إذا كانت أشطار bis الحلقية المتغايرة الصغيرة ستكون عقاقيرياً وطبياً قابلة للطرق (قابلة للحل).

السم البروتيني البكتيري الصغير، CcdB (11.7 kDa) كذلك يوقع دنا غيراز في الفخ في معقد مع كسرات خيط دنا - المزدوج. ويُرْمِز CcdB (11.7 kDa) و CcdA (7.8 kDa)، بروتيني الشريك المضاد للسم (antidote)، في بلازميد F في الإشريكية القولونية. ويرمز بلازميد F برنامج موت الخلية (cell death program) الذي يُشغَل في الخلايا البكتيرية الابنة التي لم ترث نسخة من بلازميد F أثناء إنقسام الخلية (انظر كوتوير وآخرون 1998, Coururier *et al.*، للمراجعة). وإذا قُفِد بلازميد F يُحَل CcdA أولاً، بواسطة فعل لون بروتينز (Lon protease)، ومن ثم بإمكان الوحدة الفرعية CcdB التي تم إطلاقها ان تهاجم غيراز وتؤدي إلى موت الخلية. تحليل آلية تثبيط CcdB لجيريز،

مقارنة بكونيولونات، كومارينات، وميكروسين B17، قد يسفر عن تبصرات تصميم جديد إلى مشبّطات غيراز جديدة.

وقد أشارت التقدّمات التركيبية البيولوجية الحديثة بأن موقع ربط ATP من الوحدة الفرعية GyrB لها نظيريات ثنيات (طيات) مع العائلة الضخمة من البروتينات الرابطة لـ دنا الأخرى المعروفة بعائلة GHF family (من غيراز B، chaperone Hsp90، وإيزيم ترميم دنا، MutL (بان ويانج 1998, Ban and Yang)). وقد تم العثور على مجموعة متنوعة من كل من المنتجات الطبيعية والريبينات الإصطناعية (انظر مك ماهون وآخرون 1998, McMahon *et al.*)، ومثل هذه للمراجعة) التي تعتبر مشبّطات قوية وإنتقائية لربط ATP مع البروتينات (وبالتحديد بروتين كينازات)، ومثل هذه المكتبات ربما تكون المصادر للربيطات القوية التي بالإمكان أن تكون المثلّى للنوعية والفعالية ضد توبوايزميرازات النوع II البكتيري.

### البروتينات التي تتفاعل مع رنا

في ديناميكيّات أبضى رنا، تتشكل معقدات عابرة بين رنا و دنا والبروتينات (انظر تانير وليندير Tanner and Linder, 2001، للمراجعة) ويجب أن يفعل ذلك بنوعية وكفاءة حركية. وتحتاج جزيئات رنا بأن تكون مطوية، غير مطوية، ويعاد طيها في بعض أو كل طولها للوظيفة البيولوجية. الإنزيمات التي تحل (تفك) جزيئات رنا (وربما تعيد لفهم) هي رنا هليكايز RNA helicases (تانير وليندير 2001, Tanner and Linder)، مستعملاً طاقة التحلل المائي لـ NTP لدفع الفك (unwinding)، مثال، رنا المزدوج - الحيط. وتحدد هليكايزات RNA helicases بواسطة سبعة إلى ثمانية تسلسل زخارف (رسوم) محفوظة، وتُظهر تراكيب رنا و هليكايزات دنا DNA hecases تشابه ثلاثي - الأبعاد قريب. تحدث بعض وظائف RNA helicase في بدايات النواة، وتشمل الإنتساخ، النشوء الأحيائي للريبوسوم (ribosome biogenesis)، بدء الترجمة، وتحلل (نكوص) رنا (RNA degradation). وتحدث وظائف أخرى في سويات النواة وتشمل تحرير (تصحيح) Mrna (mRNA editing)، وصل (splicing)، ونقل رنا (RNA transit) إلى السيتوبلازم. وبالنظر بأن رنا هليكايز RNA helicases هي محركات إنتقال لـ رنا، فلقد تم اعتبارها كإنزيمات رنا شايفرز و رنا ماتيوراز و رنا اتواينداز RNA chaperones, maturases and unwindases "مشارك مؤقتة" temporary clamps التي تسمح بإعادة ترتيب تفاعلات RNA بطريقة يمكن السيطرة عليها" (تانير وليندير Tanner and Linder, 2001). وهذه التحليلات أدت إلى الاقتراح بأنه منذ أن كان رنا هليكايز (RNA helicases) مطلوب للوظيفة البكتيرية، فمن الممكن أن تكون أهداف إنزيم المضاد البكتيري مناسبة للتشيط شريطة تحقيق الإنتقائية مقابل متجانسات سويات النواة.

## نظرات جديدة في بعض الأهداف الجديدة

بالإضافة إلى الأهداف التقليدية المصادقة، هناك دلائل على أن العديد من الجوانب الأخرى للأبيض البكتيري والفسلولوجيا يجب أن تكون عرضة للمضادات الحيوية (ألين 1985، Allen، سوتكليف 1988، Sutcliffe). بالإضافة إلى الأهداف التي نشأت والتي سوف تنشأ من نهج الجينومات التي لوحظت في بداية هذا الفصل، هناك بعض الإنزيمات والعمليات الأخرى التي يوجد لها بالفعل مبررات معقولة إلى قوية للدراسة كأهداف مضادة بكتيرية جديدة.

## تصنيع الحمض الدهني البكتيري

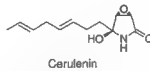
يعتبر البناء الحيوي للحمض الدهني ضروري للنمو البكتيري والبقاء على قيد الحياة. ولقد لاحظنا في الفصل الثاني عشر التشابه في المنطق الإنزيمي لحظ - التجميع لكل من الأحماض الدهنية ومنتجات بوليكتيد الطبيعية، في كل من تكوينات (صور) النوع I والنوع II للمحفزات النموذجية أو الوحدات الفرعية المنفصلة، بالترتيب. في سويات النواة، يتم تنظيم إنزيمات fatty acid synthetases (FAS) في الوحدات الفرعية المتعددة النموذجية، كما تم شرحه في لنظم النوع I، في حين أنه في معظم البكتيريا ينظم FASs كنظم النوع II مع وحدات فرعية منفصلة، مما يشير احتمال التثبيط الإنتقائي. ومن المعروف بأن المنتجات الطبيعية لها عمل مضاد حيوي بواسطة تثبيط البناء الحيوي للحمض الدهني، مثل سيربولين (cerulenin) (الشكل ١٥.١٩)، الذي يقلل (alkylates) ويثبط نشاط الموقع - النشط سيستين أليف النواة (nucleophilic cysteine) لإنزيم كيتوسينثاز (ketosynthase) في FASs بواسطة فتح حلقة إيبوكسيد (epoxide ring). والمنشط الأكثر إنتقائية لحفازات كيتوسينثازات البكتيرية يمكن أن تكون فعالة.

ومؤخراً، لقد وجد بأن المطهرات المضادة البكتيرية من صنف تراكولوسان (الشكل ١٥.٢٠) تعرقل خطوة تشبع أولفين (olfen) في البناء الحيوي للحمض الدهني المحفز بواسطة إنزيم *FabI* enoyl-ACP reductase enzyme في الإشريكية القولونية (مك موري وآخرون 1998، McMurphy *et al.*)، مؤكداً أن هذه أهداف جيدة. الطفرات - المقاومة لتراكولوسان في الزائفة الزنجارية لضخ العوامل المطهرة التي تستعمل على نطاق واسع خلال مضخة تدفق MexC-MexD-OprJ (تشوانتشوين وآخرون 2001، Chuanchuen *et al.*)، وأفيد كذلك بأن ١.٤-ديسبوسيتيتويد إميذاولات (1,4-disubstituted imidazoles) هي مثبطات لـ *FabI* ذات حجم مولي (جزء من ألف بليون) دقيق - منخفض (هيردينج وآخرون 2001، Heerding *et al.*). نظيرات المتطفلة السلبية لجين enoyl-ACP reductase من الإشريكية القولونية (*fabI* in *E.coli*) هي *inhA* مع تطابق ٣٦٪. وإنزيم *InhA* أقل حساسية لتراكولوسان ولكن حساس بالأخص لأيزونيازيد (isoniazid)، أحد المكونات الأساسية للمعالجة الكيميائية التوليفية للدرن. ويتطلب أيزونيازيد (الشكل ١٥.٢٠ B) تنشيط مؤكد بواسطة الإنزيم المتطوري كاتلاز (KatG catalase) ومن ثم يُوسل NAD المربوط في الموقع النشط لـ *InhA* لينشط الإنزيم (روزوارسكي وآخرون 1998، Rozwarski *et al.*). دراسات التركيب -

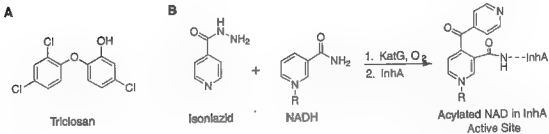
الوظيفة لكل من *FabI* و *InhA* بدأ من تريكلوسان - والمكتبات المستندة - على أيزونيايد ربما تؤدي مضادات حيوية ومطهرات جديدة.

تتطلب الوظيفة في تحفيز FASs لكلا النوع I والنوع II إعداد بعد - الإنتساخ (post-translational priming) لأشكال apo من ACPs بواسطة فوسفوباتيتثيل ترانسفيرازات (phosphopantetheinyl transferases (PPTases)، التي تتركب الحبل فوسفوباتيتيلين (phosphopantetheinyl (Ppant) tether)، المشتق من المادة المشاركة CoASH (لامبالوت وآخرون ١٩٩٦)، في holo ACP (الشكل ١٥،٢١). والآن أشكال holo من ACP تملك مجموعة -SH من مجموعة Ppant الترقيعية، التي تعتبر موقع نمو سلسلة أسيل. ولقد تم تحديد تراكيب كل من أشكال apo و holo ل ACP للعصية الرقيقة (إكسو وآخرون 2001، Xu *et al.*)، كما أن للإشريكية القولونية ACP والوحدة الفرعية ACP لأكتينورودين النوع II بوليكتيد سينثاز (actinorhodin type II polyketide synthase) (كربم وآخرون 1997، Crump *et al.*).

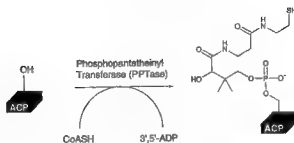
يستعمل FASs من الخلايا الحيوانية أيضاً Ppant priming of FAS، ولذلك فمن غير الواضح إذا كان بالإمكان تحقيق التثبيط النوعي ل PPTases لبدايات النواة، ويشمل معقد ACP-PPTase (شيرجاذ وآخرون 2000، Chirgadze *et al.*، باريس وآخرون 2000، Parris *et al.*، روتير وآخرون 1999، Reuter *et al.*)، ويسمح بالنهج - المستند على التركيب لتصميم المثبط من أجل اختبار هذه الفرضية. ويعتبر كل من ACPs و PPTases اللذين يعدلها أهداف محتملة للمضادات الحيوية.



الشكل (١٩، ١٥). تركيب المنتج الطبيعي سريولين: مثبط النشاط القلوي لسينثازات الحمض الدهني.



الشكل (٢٠، ١٥). (A) تريكلوسان، مطهر مضاد بكتيري، يثبط *enoyl-ACP reductase* (B) يتطلب الدواء المضاد للدرن أيزونيايد الأكسدة الألفية ليولد NAD المؤسّل في الموقع النشط للهدف *enoylreductase*.



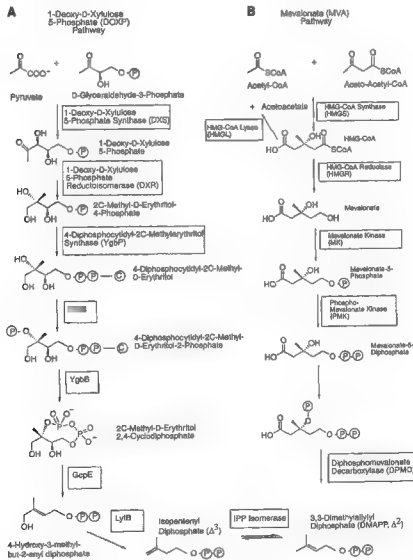
الشكل (١٥،٢١). التفاعل الحفز بواسطة فوسفوبانتثينيل ترانسفيراز في إعداد حقول apo ACP.

### البناء الحيوي لأيزوبرينويد (isoprenoid) البكتيري إنزيمات المسار غير الكلاسيكي

لحمسين عاماً عرف مسار ميفالونيت (mevalonate pathway) إلى المنتج الطبيعي أيزوبرينويد ودرس جيداً. والجوهر لهذا المسار (الشكل ١٥،٢٢) هو بناء هيكل ميفالونيت ذا سلسلة - متفرعة - ستة - كربون من ثلاثة جزيئات من acetyl-CoA المكثفة تسلسلياً بواسطة إنزيمات ثيوليزوهيدروكسي ميثيل جلوتاتريل-CoA سينثاز (thiolase and hydroxymethylglutaryl-CoA synthase). وبعد ذلك يخضع ثيوستر إلى اختزال أربعة- كربون ليحول ثيوستر كربونيل (thioester carbonyl) إلى الكحول الأولي لميفالونيت. عملية بيروفوسفوريليشن (pyrophosphorylation) عند الكحول الأولي وفوسفوريليشن عند الكحول الثالث (tertiary alcohol) بواسطة اثنين من كينازات (kinases) لإنشاء تفاعل أولفين - المكون لنزع الكربوكسيل / والتخلص من  $P_i$  (olfen-forming decarboxylation /  $P_i$  elimination reaction) للحصول على أيزومرثومي داي ميثيليل - بيروفوسفات (دايميثيليل  $PP_i$  allylic isomer dimethylallyl-pyrophosphate ( $\Delta^3$  (dimethylallyl-PP)). وأخيراً، يُحرك أيزوبنتينيل  $PP_i$  أيزوميراز (isopentenyl-PP isomerase) الرابط المزدوج إلى مصوغ (أيزومر)  $\Delta^2$ ، أيزوبنتينيل  $PP_i$ ، وبذلك تكون كلا المصاوغات (الأيزومرات) متوفرة لتفاعلات الإطالة (والش 1979, Walsh).

وفي السنوات الأخيرة أصبح واضحاً، بدايةً من دراسات العلامات ومؤخراً من العمل مع الإنزيمات المنقاة (الصافية) (انظر روديش وآخرون 2001, Rohdich *et al.*، للمراجعة)، بأن acetyl-CoA لم يكن المصدر لأي من مصاوغات (أيزومرات)  $\Delta^2$  أو  $\Delta^3$  أيزوبنتيل  $PP_i$ ، المطلوبة للبناء الحيوي لأيزوبرينويد كوينينات (isoprenoid quinines) البكتيري الأساسي (الإنزيم المشارك Q) C55undecaprenyl phosphates التي تعمل كحوامل في تجميع الببتيدوغليكسان في البكتيريا السالبة - لغرام. وبدلاً من ذلك، فالمسار البكتيري هو غير كلاسيكي (الشكل ١٥،٢٢)، يكتف بيروفيت وجليسيرالديهيد-3-P (glyceraldehydes-3-P) ليصنع ديوكسينيلوز-5-P (deoxyxylulose-5-P (DX-5-P))، وأيضاً كوسيط في البناء الحيوي لثيامين وبيروكسكال (thiamine and pyridoxal). ومن الواضح بأن مشبط الإنزيم الأول DX-5-P synthase هذا سيكون مضاد بكتيري واعد، يُعرق الخطوة الرئيسة في الأيضات الأساسية الثلاثة. وبعد

ذلك يتحول DX-5-P من السلسلة - المستقيمة إلى هيكل السلسلة - المتشعبة بواسطة ريدكتوايزوميريز المعتمد على - NADPH (NADPH-dependent reductoisomerase) معطياً الوسيط 2-C-methyl-D-erythritol-4P (ME) وتشط هذه العملية الإنزيمية بواسطة المنتجة الطبيعي فوسفونيت فوسميدوميسين (phosphonate fosmidomycin) ( $K_i=10$  Nm) (Koppisch *et al.*, 2002)، ويُفترض بأن يقوم بدور منابر للوسيط الأديهيد وكقطة بداية معقولة لتصميم مثبط عملي. والإنزيمان التاليان هما CMP-نيوكليوتيديل ترانسفيراز (CMP-nucleotidyltransferase) ليولد MB-CDP، وبعد ذلك كيناز، ليطلق CMP وينتج ME cyclic PP. ولقد تم مؤخراً وصف تركيب ME cyclic PP synthase (Kemp *et al.*, 2002، كيمب وآخرون).



الشكل (١٥، ٢٢). مقارنة (A) المسارات غير الكلاسيكية و(B) الكلاسيكية لبناء الجزيء الحيوي لأيزوبرينويد في البكتيريا. أهداف جديدة للإنزيم.

والخطوات الإنزيمية التالية لكسر رابط C-OPP (رابط كربون - أكسجين من رابط الكحول-PP) وفقدان كلا المجموعتين -OH. يعطي isopentenyl-PP  $\Delta^2$  مازالت غامضة، على الرغم من أنه قد تم اقتراح الآليات (هيشت وآخرون 2001, Hecht *et al.*).

من المرجح أن أي من الإنزيمات المتعددة في مسار غيرمسار ميفالونيت (nonmevalonate pathway) ستكون أهداف مضادة بكتيرية جيدة؛ لأنه مسار ميفالونيت الذي يستعمل في النباتات والحيوانات. ولقد لاحظ هيدل وآخرون (٢٠٠٢) بأن المعلوماتية الحيوية البكتيرية التي توحى بجينات ترمز إلى مسار ميفالونيت هي أساسية في المكونة العنقودية الذهبية وغيرها من المكونات الموجبة - لغرام. على سبيل المثال، وتستعمل المكونة العنقودية المعوية البرازية والمكونة العنقودية المعوية فيسيم (*Enterococcus faecalis* and *E. faecium*) المسار الكلاسيكي، حيث يدمج الثيوليت وهيدروكسي ميثيل جلوتاتريل CoA-ريدكتازات في بروتين واحد، بحيث إن مثبطات المسار الكلاسيكي يجب أنه تعمل ضد هذه المُمرضات الموجبة - لغرام.

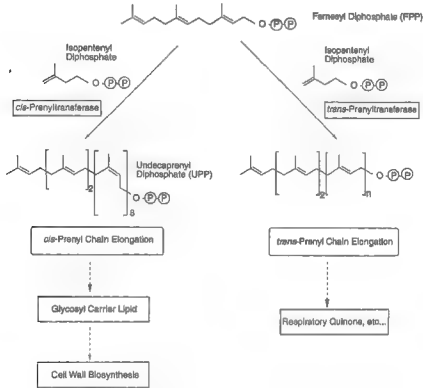
#### C<sub>55</sub> أنديكابرينيل -PP سينثاز (C<sub>55</sub> undecaprenyl-PP synthase)

C<sub>55</sub> أيزوبرينويد حامل الدهن في مرحلة الغشاء للبناء الحيوي للبيتيدوغليكان، أنديكابرينيل-PP، يُجمع بواسطة *cis* - برينيلترانسفيراز (*cis*-prenyltransferase)، أنديكابرينيل -PP سينثاز (فوجيهاشي وآخرون Fujishashi *et al.*, 2001). ويختلف هذا الإنزيم عن ترانس - برينيل ترانسفيرازات (*trans* prenyltransferases) التي تطلق C<sub>5</sub> إلى C<sub>15</sub> وحدات أيزوبرينيل وتحافظ على روابط ترانس المزدوجة في صفائف - ١.٥ المميزة لأيزوبرينويدات الطبيعية. وترانسفيرازات التي تطلق أيزوبرينويدات بواسطة الزيادات C<sub>5</sub> لتصنع الروابط المزدوجة لترانس (*E*) تزيل الهيدروجين البروتشيري C<sub>3</sub> hydrogen ProR من موحود allylic C<sub>5</sub>، بينما ترانسفيرازات التي تطلق إلى الرتبة المزدوجة *cis* (Z) تزيل الـ C<sub>1</sub>-H ProS للموحود allylic monomer  $\Delta^3$ . والسلاسل الجانبية ubiquinone isoprenoid C<sub>30-40</sub> كلها مصاوغات (أيزومرات) *E*.

يستعمل أنديكابرينيل-PP سينثاز بدلاً عن ذلك وحدات فارنيسيل-PP (farnesyl-PP) (C<sub>15</sub>) مع ثلاثة روابط مزدوجة ترانس) كبريم ويقوم بثمانية إطالات *cis* متتالية مع أيزوبرينيل -PP (الوحدة C<sub>5</sub>) كمادة مانحة لتبني سلسلة C<sub>55</sub> undecaprenyl (الشكل ١٥،٢٣)، مولدة ثمانية وحدات *cis*-prenyl (Z) والوحدات الثلاثة *trans*-prenyl (E) عند النهاية البعيدة لسلسلة C<sub>55</sub>. ومن غير المعروف كيف أن تركيب أيزومر E/Z للروابط المزدوجة يحدد وظيفة الدهن C<sub>55</sub> كحامل للبيتيدوغليكان في بناء جدار الخلية.

ويشارك نفس نوع *cis* - prenyltransferase في سويات النواة لينتج السلسلة - الطويلة أيزوبرينويد دوليكول-PP (isoprenoid dolichol-PP) المشتتة في تجميع سلسلة السكريد الأحادي لتسكير البروتين (glycosylation) (بج وبراندش 1994, Bugg and Brandish). ولذا فإنه من غير المعروف ما إذا يمكن لأحد الحصول على الشيط الانتقائي

١ cis- prenyltransferase لبدايات النواة، ولكن إذا كان من الممكن تحقيقه الذي من شأنه عرقلة تكوين الدهن I والدهن II في البناء الحيوي للبيتيدوغليكسان. تركيب أشعة - إكس لأنديكابرينيل - PP للمكورة الدقيقة ليوتيس (*Micrococcus luteus*) (فوجيهاشي وآخرون 2001, Fujihashi *et al.*) يشير إلى وجود توجه رابط لقلب / مستقبل فارنيسيل- PP (farnesyl-PP acceptor/ template) وماتح أيزوبيتينيل-PP في الخطوة الأولى (من ثمانية) لتكوين رابط CC- ويشير إلى السلسلة النامية، مطيلاً خمسة - كربونات في الوقت نفسه، يستطيع أن يملأ الشق (cleft) الراهب للماء. وربما تكون الانشقاقات مستهدفة بواسطة المثبطات.



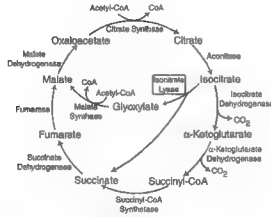
الشكل (٢٣، ١٥). الخرواات مسارات برينيل ترانسفيراز بين تحويلات cis و trans-prenyl.

### أيزوسيرت لياز (Isocitrate lyase)

البديل لأيض الحمض الدهني الذي يبدو أنه هدف جديد في المتفطرة السلية هو تحويل الكربونات من الأحماض الدهنية خلال تحويلة جليوكسالييت (glyoxylate shunt) إلى غلوكوز. وعلى الرغم من أن إنزيمات انتقال جليوكسالييت، مثل أيزوسيرت لياز (الشكل ٢٤، ١٥)، تعدُّ غير أساسية للبقاء للمتفطرة السلية في أطباق التزريع، تعدُّ أساسية للفعوية في الحيوانات (مك كيني وآخرون 2000, McKinney *et al.*)، مما يدل على أن البكتيريا



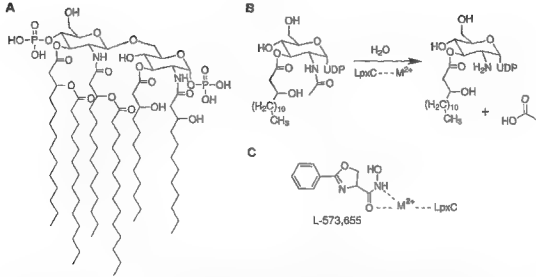
الإمراضية تعتمد على الحمض الدهني للحصول على الطاقة أثناء العدوى في الجسم الحي. وهذا مثال حيث إن فحص الفوعة بدلاً عن فحص المبيد البكتيري يكشف عن هدف جديد محتمل. والدورة جليوكسيليت قد تورطت بالمثل كمتطلب للفوعة الفطرية (لورينز و فينك 2001, Lorenz and Fink).



الشكل (٢٤، ١٥). تحويل جليوكسيليت ودور أيزوسترات لياز.

#### البناء الحيوي للدهن A في البكتيريا السالبة - لغرام

الإستراتيجية التي يمكن أن تستهدف العدوى البكتيرية السالبة - لغرام، ولكم ليس الموجبة - لغرام، هي لعرقلة البناء الحيوي للدهن A من مركب عديد السكريد الدهني للغشاء الخارجي البكتيري (الشكل A١٥،٢٥). ويسبب لب عديد السكريد الدهني العديد من الآثار الجانبية السامة المصاحبة للعدوى السالبة - لغرام (رايتز 1987, Raetz). ولب الدهن A هو جلوكوسامين ثنائي السكريد (glucosamine disaccharide)، هيكسا-أسيليتيد (hexa-acylated) ويحتوي على فوسفيت إسترات عند ١ و ٤. وطلية أشطار غلوكوسامين هي الطلائع الشائعة نيوكليوسيد سكرفوسفو الثنائي (diphosphosugar UDP-GlcNAc) المؤستر (esterified) عند 3-OH مع مجموعة 3-R-3-OH-myristoyl المنوطة بواسطة 3-R-3-OH-myristoyl-S-ACP المناظرة. وهذا المستقبل بعد ذلك ينوع منه الأسيل على شطر N-acetyl (الشكل B ١٥،٢٥) بواسطة الإنزيم LpxC قبل ميرستويليشن (N-3-OH-myristoylation (LpxD)). وإنزيم LpxC deacetylase هو إنزيم زنك معدني الذي قد تم تثبيطه بواسطة إنزيم المستخلب المعدني metal-chelating phenyl-oxazolyl hydroxamates (الشكل C ١٥،٢٥) (جاكمان وآخرون 1999, Jackman *et al.*، أونيشي وآخرون 1996, Onishi *et al.*). وهذه المثبطات لم تمحزز تقدماً؛ بسبب الاختراق الضعيف إلى داخل البكتيريا، ولكن تحقق بأن LpxC هو هدف قتل في البكتيريا السالبة - لغرام. كما أن فحص مكتبة مثبط الإنزيم المعدني قد قلب الأدوار الرئيسة التي تستهدف LpxC (كليمنتس وآخرون 2002, Clements *et al.*).



الشكل (١٥، ٢٥). (أ) تركيب لب الدهن أ، (ب) نوع أسجل UDP-GlcNAc بواسطة LpxC، (ج) مبطات phenyl-oxazolyt hydroxamate. إنزيم الزنك LpxC.  $M^{2+}$  هو المعدن المرتبط بالإنزيم المطلوب للتحفيز.

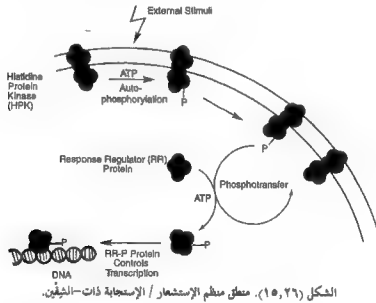
### أنظمة الشقن التنظيمية

الآليات العامة التي تستخدمها البكتيريا لاستشعار بعض التغير الكيميائي في بيئها الدقيقة الخارجية المباشرة في معظم الأحيان تستخدم نظم إشارة التنبؤ ذات - الشقن (two-component signal transduction systems)، مع منظمات محسات واستجابة كمنصيرين من البروتين (باريت وهوتش 1998, Barret and Hoch). والجس عادة هو هيسيتدين كيناز (histidine kinase) عبر الغشاء ومنظم الاستجابة هو منشط (مفعل) انتساخي ل دنا (الشكل ١٥، ٢٦) (انظر ماتسوشيتا وجاندا 2002, Matsushita and Janda). استشعار الرابطة عن طريق حلقات (غرى) حول الجلبة والحقل المحس عبر الغشاء يؤدي إلى الفسفرة الذاتية (autophosphorylation) للموقع - النشط هيسيتدين في حقل هيسيتدين كيناز السيترولازمي للمجس وما يليه من نقل مجموعة فوسفوريل (phosphoryl group) من P-His إلى Asp- $\beta$ -carboxylate المحفوظة في النصف الأميني لمنظم الاستجابة. ويحث الشكل P-Asp لمنظم الاستجابة تغيير تجسمي (allosteric change) في تشكّل حقل ربط دنا، ويستطيع المنشط إبطال قمع (derepress) الإنتساخ للجينات المستهدفة (إذا كان قامعاً في حالته القاعدية) ويبدأ الاستجابة المبرجة.

لقد لاحظنا بأن نظام - الشقن VanS-VanR هو عنصر استشعار/ محول مهم للأنماط الظاهرية VanB و VanA في المكورة المعوية البرازية المقاومة للفانكومييسين (VRE) السريرية المهمة (الفصل العاشر). كما كانت هناك مؤشرات بأن نظم الشقن تعدّ محددات للفوعة البكتيرية. ولقد استعمل النهج القائم - على الجينات لوصف النظم المنظمة ذات - الشقن في المكورة العقدية الرئوية (ثروب وآخرون 2000, Throup *et al.*)، الذي تم فيه اكتشاف ١٤ زوج

جينات ذات - الشقين. وعلى الرغم من أن الوظائف الفسيولوجية للأزواج الـ ١٤ لم يمكن تحديدها بسهولة من التسلسل، فمن الممكن إخراج كل زوج وتقسيم إمراضية طفرات المكورة العقدية الرئوية في نموذج (موديل) عدوى الجهاز التنفسي في الفئران. وأحد منظمي الاستجابة، في العائلة الفرعية OmpR، كان أساسياً للنمو، وكان لهذا مظاهر أساسية في المكورة العقودية الذهبية والعصية الرقيقة. سبعة أزواج جينات أخرى ذات - الشقين، عندما تتحور (تتطفر)، تُظهر بعض التوهين (attenuation) في نمو المكورة العقدية الرئوية في نموذج عدوى الجهاز التنفسي في الفأر.

في المكورة العقودية الذهبية، تعطل زوج الشقين *srhS-srhR* أدى إلى ٣- لوغاريتم التوهين (3-log attenuation) لنمو سلالة المكورة العقودية الذهبية هذه في نموذج الكلية التهاب الكلية والحويضة (pyelonephritis model) في الفئران (ثروب وآخرون 2001، Throup *et al.*) وأشار تحليل صفوف *Mra* بأن زوج الشقين هذا مهم لتقليل المرض على النمو عند ضغط الأكسجين المنخفض (low oxygen tension) عند التبديل للطرق اللاهوائية لتوليد الطاقة. والآهوائية الاختيارية (facultative anaerobiosis) للمكورة العقودية الذهبية هو واحد من السمات الرئيسة التي تتبع له بإنتاج عداوى النسيجة - العميقة، المستمرة.



وهذه النتائج مهدت الطريق لتحليل الدور الخاص لأزواج الإستشعار / المُحوّلة ذات الشقين الثمانية هذه في الإمراضية، وتشمل العمليات مثل الالتصاق والتحلل الذاتي (adhesion and autolysis)، وربما تساعد في تحديد الأولوية لأي زوج من الشقين يفضل كأهداف مضادة بكتيرية. وكشف تحليل مجين الزائفة الزنجارية ٦٣ أو ٦٤ نظم ذات - شقين، مما يوحي إلى إستراتيجيات تحكم متطورة ومعقدة لإدماج الإشارات الخارجية بواسطة هذا المُمرض

المتنوع (رودريجو وآخرون 2000, Rodrigue *et al.*). وقد تم تحديد واحد من هؤلاء من منظمي الاستجابة للزائفة الزنجارية، PvrR كمغير للتحول النمطي الظاهري من أشكال المقاومة - للمضاد الحيوي إلى الحساسية للمضاد الحيوي وكذلك تسهم في تشكيل الفلم الحيوي (biofilm) (دريكنارد وأوسوبيل 2002, Drenkard and Ausubel).

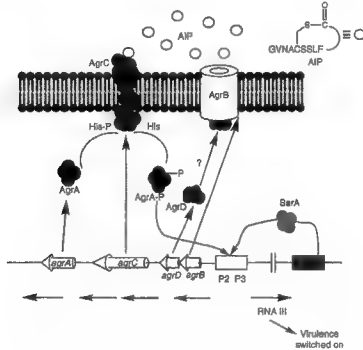
لقد ارتبطت نظم الشقين مع النوعية. ففي سلالات المكورة العنقودية الذهبية، تعدّ دائرة الشقين *agr* signaling circuit عنصراً أساسياً في التحكم الجيني لإظهار محددات النوعية، وتشمل إفراز الإنزيمات الخارجية، السميات البروتينية، الاصقات (adhesions) (ليون وآخرون 2000, Lyon *et al.*). وزوج الشقين *agr*، *AggA* و *AggC*، تحت تحكم نصاب - الاستشعار (انظر اسفل). في الممرض السالب - لغرام السالمونيلا إنتريكا ضرب تيفيموريوم (*Salmonell enteric serovar Typhimurium*) يشغل زوج الاستشعار / المحول PhoP-PhoQ بواسطة تقييد (تحديد)  $Mg^{2+}$  أو  $Ca^{2+}$  بعد ابتلاع البكتيريا بواسطة الخلايا البلعمة الكبيرة (macrophages) أو الخلايا الظهارية. ينشط PhoP-PhoQ جينات الانتساح التي تعيد قبوله (بناء) الغشاء الخارجي، ويشمل التعديلات على الدهن A (جيو وآخرون 1998, *et al.*). وتشمل هذه إضافة أمينوأرابينوز (aminoarabinose) إلى مجموعات فوسفيت للدهن A وإضافة مجموعة أسيل سابعة، سلسلة بالميتويل (palmitoyl chain)، إلى الدهن A، الحفّازة بواسطة PagP. ومن ضمن التأثيرات. ومن بين الآثار إحداث التعديلات في شحنة السطح للغشاء الخارجي التي تنتج المقاومة للبيبتيدات المضادة للجراثيم الكتيونية، وتشمل تلك من الخلايا البلعية الكبيرة وكذلك من المضاد الحيوي الكتيوني بوليميسين B (الفصل السادس) (جيو وآخرون 1997, Guo *et al.*). المركبات التي من شأنها عرقلة كل من زوج الاستشعار / المحول Agr في المكورة العنقودية الذهبية أو زوج PhoP-PhoQ في السالمونيلا ضرب تيفيموريوم سوف توعده بعوامل مضادة بكتيرية جديدة، كما هو في مضطبات السالمونيلا PagP أسيل ترانسفيراز.

وصلت سبل الفحص عن KinA بروتين هيسيتدين كيناز من العصية الرقيقة إلى عديد من المضطبات، وتشمل كلوسانتيل تتراكلوروساليسيلانيليد (closantel tetrachlorosalicylanilide) وأتريتيل أميدين (atrityl amidine) (RWJ-49815)، ولكن كل هذه ربما تكون تمسحات غير نوعية، مشوشات للتركيب (perturbants)، ومكسبات بروتين بدلاً من موجبات محددة (هيلارد وآخرون 1999, Hilliard *et al.*، ستيفينسون وآخرون 2000, Stephenson *et al.*). وتحليل الصف الدقيق (microarray analysis) قد تم تطبيقه على نظم الشقين للعصية الرقيقة (كوبايشي وآخرون 2001, Kobayashi *et al.*).

وتم تحديد تركيب أشعة - إكس للعديد من منظمات الاستجابة والحقول الحفّازة لكينازات الاستشعار (روينسون و ستوك 1999, Robison and Stock)، مما أدى إلى إدراجها في العائلة الفرعية GHL للبروتينات الحالة لـ ATP المذكورة أعلاه لـ DNA غيراز. ومرة أخرى، المجموعة الكبيرة من مضطبات موقع-ATP من بحث بروتين كينازينيغي أن تكون نقاط انطلاق جيدة للكشف عن الموجبات التي ستكون انتقائية للربط مع جيب أدينين (adenine pocket) لمواقع ATP لهستيدين مستشعر كينازات (histidine sensor kinases).

## البناء الحيوي استشعار النصاب: التثبيط لتوهين الفوقية

لاحظنا في الفصل الحادي عشر استخدام نظم استشعار النصاب الذي بواسطته تستشعر البكتيريا الكثافة السكانية وتصنع استجابات متوسطة وراثياً لنتج عناصر الفوقية، وتشمل المضادات الحيوية. وكما ذكر أعلاه، أن موضع *Agr* في المكورة العنقودية الذهبية يعد جزءاً من الاستجابة العالمية للفوقية. وكما هو مبين في الشكل (١٥،٢٧)، بروتينات *AgrA* و *AgrC* من مُشغّل الخمس جينات *agr* operon هي كيناز عبر الغشاء ومنظم الاستجابة (ليون وآخرون 2000). يعد *AgrB* ببتيد مضخة التدفق المكرسة للمعالجة الإنحلالية للبروتين وإفراز منتج الجين *AgrD*، شكل قبل (بدء) الببتيد (propeptide form) من الببتيد المُحث الذاتي الناضج (AIP) (autoinducing mature peptide).



الشكل (١٥،٢٧). موضع الببتيد المُحث الذاتي، مشغل *agr* للمكورة العنقودية الذهبية.

وبمجرد معالجة AIP بالاغلال البروتيني وإفرازه، فالربطة الخارجية لـ *AgrC* هي التي تُشغّل المزيد من الانتساخ للموضع *Agr* في الخلية المنتجة والخلايا المجاورة. يُقدم استشعار - النصاب للمتعلم على الكثافة من قبل تركيز AIP المركز، الانتشاري واستقباله المحدد بواسطة *AgrC*. ويعد تركيب AIP شاذ. وهو ثيولاكتون (thiolactone) من ثنائية إلى تسعة فضالات، تنشأ من أسر فضالة نهاية-سي فينيل الآتين (C-terminal phenylalanine) بواسطة السلسلة الجانبية لـ (Cys<sub>8</sub>). الأكمامز الحلقي أو لاکتونز الحلقي المقابل، الذي يستبدل N أو O لـ S من ثيولاكتون،

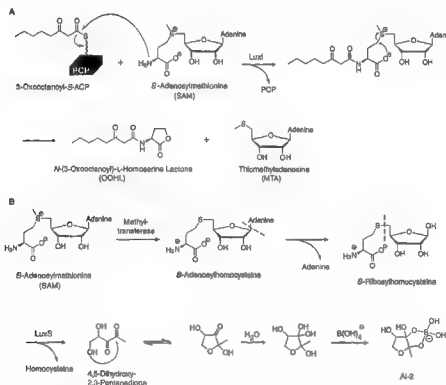
هي مبطات، ترتبط مع الحقل الخارجي لـ AgrC ولكن لا تحول الإشارة عبرياً (ليون وآخرون 2000, Lyon et al.). وهذا يشير إلى نهج لتضاد (استعداد) مسار إشارة Agr، ويولد مبطات عالمية لمسار استجابة الفوعة هذا. ولقد شوهد أربعة متغيرات من AIP، مما أدى إلى تصنيف المجموعات الأربعة من فيرمونات AIP من المكورة العنقودية الذهبية (مك دويل وآخرون 2001, McDowell, et al.). ويبدو كذلك بأن نظم نصاب الاستشعار في البكتيريا الأخرى الموجبة - لغرام تتواسط بواسطة ببتيدات صغيرة تعمل على الفيرمونات (للمرجعة، انظر كليريبيزيم وآخرون 1997, Kleerebezem et al.). وتشمل هذه تطوير التنافس الوراثي في العصية الرقيقة والمكورة العقدية الرئوية وتنظيم المشغلات لإنتاج صنف لانتيبيوتيك من مضادات الببتيدات الجرثومية (الفصل الرابع عشر).

يبدو كذلك بأن نظم استشعار - النصاب هي محددات مهمة لعلم التشكل (المورفولوجيا) والاتصال عندما تنمو البكتيريا في تكدسات (aggregates) في الأفلام الحيوية، التي تحدث، على سبيل المثال، على القناطر المستقرة (indwelling catheters) في المرضى المومنين. وتحت هذه الظروف غالباً ما تكون البكتيريا مقاومة للمضادات الحيوية؛ بسبب الاختراق الضعيف خلال أغشية عديد السكريد المصطنعة في هذه الأغاط الظاهرية (ميللير وباسلير Miller and Bassler, 2001). والنهج الأكثر مباشرة للتبسيط سيكون لعرقلة البناء الحيوي لمشيرات (ملوحات) النصاب التي تستهل تطوير الفلم الحيوي. وفي سياق Agr المحدد أعلاه، حيث الببتيد هو جزئي الإشارة، هذا من شأنه أن يكون إما إنزيم AgrD الذي يصنع شكل قبل الببتيد (propeptide form) للببتيد الحفاز وإما نشاط البروتينات لمضخة تصدير AgrB.

وفي الحالة العامة للكائنات السالبة - لغرام التي فيها لاكتونات أسيل هوموسيرين (acylhomoserine lactones) هي جزيئات نصاب - الاستشعار بين الخلوي، سوف تكون عائلة LuxI synthases هي الهدف. ينتج أسيل هوموسيرين من إس - أدنوسيل ميثيونين (S-adenosylmethionine (SAM) والمادة المشاركة acyl-S-ACP (هانزيلكا وآخرون 1999, Hanzelka et al.). وعلى الرغم من أن القليل من تفاصيل الآلية معروفة ولكن العائلة الكبرى لإنزيم LuxI يعتقد بأنها تعمل أولاً كأמיד سينثازات (الشكل ١٥.٢٨) لتولد N-acyl-SAM و ACP الآخر، يتبعه تخليق كاربوكسيلات أكسجين (cyclization of the carboxylate oxygen) على بيتا-كربون من شطر (SAM-methionyl)، مع انفلاق الربط C-S. وهذه خطوة تكوين لاكتون وتطلق المنتج المشترك ثيوميثيل أدنوسين (thiomethyladenosine). ينبغي أن يكون من الممكن العثور على أو صنع مبطات نوعية (محددة) وفعالة من العائلة الكبرى لهذا الإنزيم وعرقلة إنتاج نصاب - الإشارات. ولقد تم مؤخراً حل تركيب شعبة - إكس لاكتون سينثياز EsaI من الزائفة ستيوارتي (*Pseudomonas stewartii*) وسوف يكون نقطة انطلاق للتصميم المستند - على التركيب للأدوية (واتسون وآخرون 2002, Watson et al.).

لقد تم مؤخراً الكشف عن عائلة ثانية من المستحثات الذاتية للنصاب، AI-2 لتسير على مضي AI-1 لاكتونات هوموسيرين، في البكتيريا السالبة - لغرام وتشمل الإشريكية القولونية النزفية المعوية (enterohemorrhagic

*E. coli* O157:H7) والفرضية المتقدمة القائلة بأن AI-1 المشاركة في الاتصال بين الأنواع (intraspecies) في حين أن AI-2 هو للاستشعار بين الأنواع. وكل من لكتونات أسيل هوموسيرين وAI-2-نصاب الاستشعار مشتقة من SAM. بينما يفلق SAM LuxI إلى ميثيوأدينوسين (methiothioadenosine) وتستعمل سلسلة هوموسيرين كجزء من جزيء إشارة AI-1، في المسار SAM AI-2 ويحول إلى S-adenosylhomocysteine بواسطة مختلف مثيل ترانسفيرازات. وبعد ذلك يعمل هيكل S-adenosylhomocysteine بواسطة إنزيمين، Pfs ليطلق أدينين وينتج S-ribosylhomocystein، يتبعه LuxS الذي ينتج DPD (4,5-dihydroxy-2,3-pentanedione) وDPD في شكل معقدات هيدريت الحلقية (cyclic hydrate) complexes (1,2-diol) مع  $B(OH)_3$  في الوسط (البينة) لينتج شكل بورت (إستر الحلقية النشط (active bicyclic borate) الذي يربط نوعياً بالبراضيات الكيميائية (stoichiometrically)، مع هدفه البروتين، LuxP، بروتين حول الحليّة ذواب وذا صلة مع البروتينات المرتبطة بربوز (ribose) (تشين وآخرون 2002، Chen *et al.*) (الشكل 15، 28). دور الإشارة هذا يعد وظيفة حيوية جديدة للمستقلب المحتوي على-بورون (boron-containing metabolite). ومعدّد LuxP-AI-2 هو الرابطة للفسفرة الذاتية مستشعر كيناز LuxQ ذا-الشقين (تشودير وباسليور 2001، Schauder and Bassler؛ وآخرون 2001، Schauder *et al.*). الإنزيم المحتوي-على الزنك LuxS (ليويس وآخرون 2001، Lewis *et al.*) يمكن أن يكون هدفاً للعوامل التي تخفض الفوعة.



الشكل (٢٨، ١٥). (A) آلية التفاعل المقترحة لأميل هوموسيرين لكتون سينثازات (AHL). (B) التخليق الإنزيمي لنصاب إشارات AHL.

### الأهداف الأخرى لتوهين القوقعة

مجموعة متنوعة من الممرضات البكتيرية الناجحة، مثل، *Yersinia*، *Listeria*، والسالمونيلا قد اكتسبت القدرة على تعديل الأنشطة بين الخلايا للمضيفين الفقاريين لفظ (تبلد) الدمار. ولهذا أهمية خاصة لهذه الممرضات، حيث إنها تحث التلوث (الدمج بالداخل) إلى داخل خلايا المضيف، مثل خلايا البلعمة الكبيرة، وبعد ذلك تعادل (تحييد) (neutralize) آلية قتل خلايا المضيف البلعية (جرويسمان 2001، Groisman). ولقد لاحظ ستينينز وجالان (Stebbins and Galan, 2001)، جالان وكولمر (Galan and Collmer, 1999)، وليي وتشينويند (Lee and Schneewind, 2001)، أمثلة على التشابه التركيبي بواسطة البروتينات البكتيرية لنظيرات خلية المضيف التي تتحكم في استجابات خلية المضيف. تُفرز كل من أنواع اليرسينيا والسالمونيلا بروتينات عبر أغشية جدار المضيف عن طريق النوع III لماكنة الإفراز (جالان وكولمر 1999، Galan and Collmer، ليي وتشينويند 2001، Lee and Schneewind)، كما ذكر في الفصل التاسع. ومن بين البروتينات المحقونة هي تيروسين فوسفاتازات (tyrosine phosphatases, YopH) من أنواع اليرسينيا، وSptP من أنواع السالمونيلا (جوان وديكسون 1990، Guan and Dixon، ستينينز وجالان Stebbins and Galan, 2000)، التي تنزع فوسفوريل (dephosphorylate) بروتينات خلايا البلعمة الكبيرة وتشمل التيروسين كيناز FAK (كيناز الالتصاق البؤري focal adhesion kinase) مما يؤدي إلى شلل هجوم البلعمة على البكتيريا (بيرسون وآخرون 1997، Person *et al.*). وعندما تحقن السالمونيلا بروتين SopE إلى داخل خلايا المضيف، فيقوم بدور تبادل عنصر جوانين نوكلوتيد (guanine nucleotide factor (GEF) لتسريع تبادل GDP بواسطة GTP عند الموقع النشط لـ Rac1 و cdc42 GTPases (انظر جالان وكولمر 1999، Galan and Collmer، ليي وتشينويند Lee and Schneewind, 2001، والمراجع فيهم). وبدورها، تقوم هذه بإعادة ترتيب الهيكل الخلوي لأكتين (actin cytoskeleton) وتُعزز امتصاص السامونيلا إلى داخل خلية المضيف، حيث يمكن استعادة الوظيفة الطبيعية للهيكل الخلوي لخلية المضيف عن طريق تسليم البروتين البكتيري SptP الذي يكون بمثابة GAP (GTPase accelerating protein)، لتمييز تراكيم Rac1 و cdc42 في حالات GDP الأصلية، الحاجة، غير النشطة. وهذا يحد من اضطراب GTPases المضيف والهيكل الخلوي وماكنة الدمج الداخلي، ويسمح لخلية المضيف المصابة بالبقاء والسالمونيلا بالإختفاء "hide out" في البيئة الدقيقة المفصولة. وأي من بروتينات SopE GEF أو SptP GAP من السالمونيلا سوف تكون أهداف محتملة لخفض الفوعة والإمراضية لمثل إستعمارات السالمونيلا هذه. وكذلك هو شأن العوامل التي تعرقل تجميع أو وظيفة ماكنة الإفراز النوع II عن طريق مكونات كل من الغشاء الداخلي والغشاء الخارجي (الفصل التاسع).

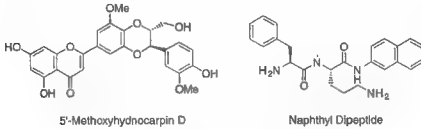
### معرفة التداخل

لقد تم إجراء الفحوصات لمعرفة التداخل ضد نظم MexA-MexB-OprM، MexC-MexD-OprJ، MexE-MexF-OprN وللزائفة النجمية، فضلاً عن مضخات الثلاث - عناصر AcrA-AcrB-TolC للإشريكية القولونية،

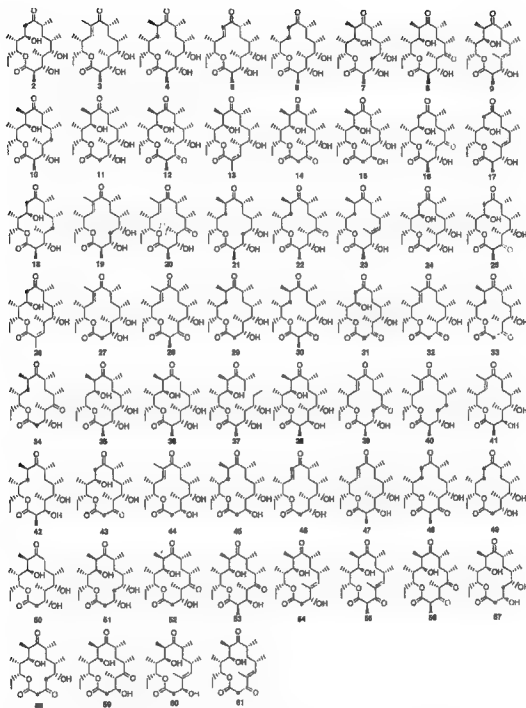


في محاولة للحج من تدفق فلوروكونيتولون. والمركبات الموجهة ثبُلت المضخات، خفضت كل من المقاومة الداخلية والمقاومة المكتسبة، وخفضت تواتر ظهور الطفرات المقاومة - لغيراز (لوموكسايا وآخرون 2001, Lomovskaya *et al.*).

المنتج النباتي الطبيعي ٥-ميثوكسيهيدنوكارين- د (5-methoxyhydnoecarpin D) (الشكل ١٥،٢٩) هو واحد من معرفتي المضخة النشط لتدفق فلوروكونيتولون (ستيرميتز وآخرون 2000, Stermitz *et al.*)، مما يشير بأن هيكل - عمل النشاط سوف يكون ممكناً. وبالمثل، فتعديل تراكيب تتراسيكلين قد أنتج مشتقات كلوروفيلثيو (chlorophylythio derivatives) التي تعرق تدفق بروتينات التدفق Tet (شوبرا وروبرتز 2001, Chopra and Roberts). وكما ذكر في الفصل الرابع، كذلك تُعد غليسيسيكليينات (glycylclines) الجديدة (الشكل ٤،٥) معرفلات مضخة تدفق Tet إضافة إلى أنها تكون نشطة في السلالات مع عوامل الحماية الريبوسومية TetM و TetO (ليي وهيكز 1999, Lee and Hecker)، ميتششر وآخرون 1999, Mitscher *et al.*). كان قد ألح للمقاومة الداخلية للزائفة الزنجارية للمضادات الحيوية في الفصل التاسع، مما يعكس كلاً من الحواجز لدخول المضاد الحيوي بواسطة المسامات وتدفق المضاد الحيوي بواسطة أنظمة المضخة المذكورة أعلاه. تسلسل مجن الزائفة الزنجارية (ستوفر وآخرون 2000, Stover *et al.*) مهد المرحلة للسبل المستندة - على المجنات. وللوهلة الأولى، فقرة البكتيريا لترميز بروتينات الغشاء الخارجي (١٥٠ جين) تبدو كبيرة بشكل غير متناسب، مع ١٩ جين من عائلة مسام OprD، ٣٤ عضو من عائلة مسام بوابات TonB، و ١٨ جين من عائلة مضخة التدفق OprM. وهذا يشير إلى الطرق المتعددة للزائفة الزنجارية لتحقيق التوازن وتنظيم تدفق الجزيئات عبر الغشاء الخارجي كلاً للدخل والخارج. ويمكن أن تحدد سبل الطرد للخارج المجموعة الفرعية الأساسية في كل فئة، وتسمح بمقاييس التصميم المستهدفة ضد هذه المجموعات الفرعية لكل من امتصاص المضاد الحيوي، مثال، ليعطي "الجيل الخامس" من الكيفالوسبورينات، ولعرقلات تدفق المضاد الحيوي.



الشكل (١٥،٢٩). معرفلات مضخات التدفق المبلغ عنها.



مكتبة من متغيرات إريثرونوليد مأكروليد (erythronolide macrolide) عن طريق إعادة برمجة حقول DEBS synthase  
(بالإذن من ملك دانييل وآخرون 1999, McDaniel *et al.*).

## المزبئات الءءءءة NEW MOLECULES

مع الأهداف الءءءءة الءى سىءم ءءءءءها والمصاءقة علفها من قبل المءبئات البءءءرة؁ مءموءاء الفءوءاء الءى ءسمء بالإنءاءءة العالفة وءءشففل الآلف؁ وءءقفء المءزافء لءءللل أصناف مءءءاء الءفن مءل ءلك الءى ءءءر ضرورفة للففوءة والبقاء فف الءفوان ولكن لفس للنفو علف أطباق ءزرفع؁ هناك أدلة علف أن ءرازن (عشراء) إلى مءاء الأهداف الءءءءة؁ والعءفء من ءفر المءروف وظففءها ءافاف؁ سوف ءكون مءاءة فف المءسءبل القرفب. الفءوءاء الآفة العالفة الإنءاءءة لها القءرة علف فءص ما فصول إلى ١٠٠٠٠٠ مركب فف الأسبوع؁ وهءا ءرء ءموءف ملالفن المركباء الءى فمكن ءشففلها فف أقل من ءلاءة أشهر.

الموارد المءءوءة لا ءءشفاف ءواء مضاء ءرءومف وءءطوّر فف هءا السفاق رفا ءكون المصاءر لءزفاء ءءءءة الءى ءءءم ءضرباء أولفة ءرفطاء و/أو مءبطاء أهداف بروءفن ءءءءة أو ءسلسلاء رفا. ءارءفاف؁ لءء ءاء مءءءاء الءطففعفة مصءراف فافاف للمركباء الءفوة النشفة؁ وبالأءص المضاءاء الءفوة؁ ورفا ءبقف نقطة الانءلاق؁ علف الرءم من وءوء سؤال عما إذا ءاء الأهداف الءءءءة القفمة من المءءءاء الءطففعفة؁ مءل؁ المضاءاء الءفوة الءءءءة؁ لا ءزال ءفر مءشففة بعء ٥٠ عاماف من ءهوء عزل المءءء الطففعف الءصرفة. ءنهء الءافف المهم علف مءى العءء الماضف قء ءان لصنع مءءباء من المركباء الاصطناعفة. وسوف ءقوم بءناول موضوء مءءباء المركباء الاصطناعفة؁ ومن ءم ءءول إلى الءهء الءءءءة مع المءءءاء الءطففعفة كمرشفاء للمضاءاء الءفوة.

### المءءباء الكفمفافة والنهء الكفمفافف الورافف

لءء لاءظنا فف الفصول السابقة بأن المركباء الاصطناعفة ءاء مصءر لءلاءة أصناف من المضاءاء الءفوة فف الاسءءءام العلاءف المءاصر: أءوة السلفا؁ الكوفنولونات؁ و أوكساءولفءفنونات. وهنالك ما فءعو إلى الاعءقاء بأن الءزفاء الءءءءة فمكن أن ءصنع لءكون مقفءة ضء أهداف ءءءءة؁ الءى فكون ففها اءءمال القاءوة المءسءءة

على - الجين السابقة الوجود منخفضة، وبالأخص إذا كانت التراكيب الاصطناعية الجديدة لم تشاهد في الطبيعة. وعلى سبيل المثال، تثبيط الصنف B - لكتامازات - المعدنية بواسطة بافينيل تترازولات (biphenyltetrazoles) تناسب هذا النموذج.

وأحد النهج لاكتشاف وتطوير المركب الاصطناعي هو باستعمال المعرفة الآلية والبيكلية، مثال، من برامج التراكيب المجينية، لبناء الهندسة المعمارية التي صممت لترسو فوق موضع الربط المتوقع أو المعروف على البروتين المستهدف. والبديل هو اتباع هذه الإستراتيجية في شكل مكتبة، التي تصنع فيها مئات من الجزيئات في مكتبة مركزة. وعلى سبيل المثال، لقد اتبع هذا النهج مع مكتبات حلقية غير متجانسة (انظر تشانج وآخرون 1999, Chang et al.) التي تهدف إلى الربط مع مواقع أدينين ATP- التي تستخدم الإنزيمات (ATP-utilizing enzymes)، ولاسيما ضد بروتين كينازات، ولكن قابلة للانساخ إلى أي إنزيم حال لـ ATP مثل دنا غيراز أو Hsp90 البكتيري (الذي شرح في الفصلين السادس والخامس عشر).

الهدف الأكثر طموحاً هو أن نفترض بأن الصيادلة يمكن أن ينتجوا ما يكفي من المجموعة المعمارية والوظيفية المتنوعة في المكتبات الكبيرة من المركبات الاصطناعية حيث هناك أرجحية معقولة بأن لإيجاد ربيطة لأي بروتين. وإذا كان من الممكن بأن تكون هذه الربيطة الأمثل للخصوصية والفعالية بحيث إن واحدة من الممكن أن تقترب من الحد الذي فيه بروتين واحد فقط يمكن أن يبط في السياق الخلوي، ومن ثم واحدة ستكون قد وصلت إلى إدراك علم الوراثة الكيميائية (chemical genetics). ولقد استخدم تشريبر (Schreiber) المصطلح علم الوراثة الكيميائية لوصف هذا السياق، حيث إن المبط الكيميائي سيكون له النوعية والقوة لتقييم النظام البيولوجي المعقد لتقييم وظيفة البروتين المستهدف مع القوة المعادلة للطرد الجيني الكلاسيكي للجين المرئ. وقد لاحظ تشريبر (Schreiber) لك بأن هذا النوع من الأهداف يقلب مفاهيم الكيمياء الاصطناعية رأساً على عقب ويعد التركيز من التصنيع المنحى - بالهدف، حيث يتم صنع منتج اصطناعي محدد في سلسلة من الخطوات مصممة للتحكم في المنتج بالتجسمية - والموضعية الكيميائية، على الاصطناع-المنحى المتنوع، حيث أهداف المخطط الاصطناعي هي إنتاج أكبر عدد ممكن من المركبات مع أقصى حد من التنوع.

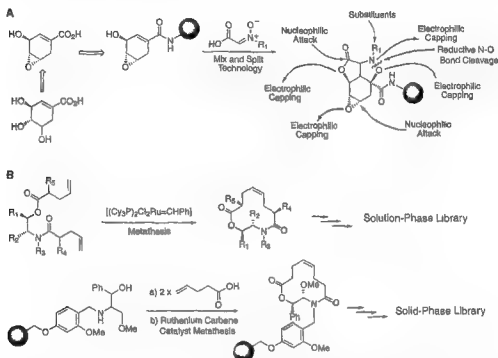
تمثل الكيمياء الاتحادية هذا النهج وقد أحدثت ثورة في الممارسات في الكيمياء الطبية، وتشمل كيمياء المضاد الحيوي الاصطناعي مع إنتاجية-عالية موازية أو تكنولوجيات "الخلط والتقسيم" (mix and split) لإحداث زيادة هائلة في عدد المركبات العضوية التي يمكن الوصول إليها في فترات زمنية قصيرة. ونوعية المكتبات الكيميائية الاتحادية تعتمد على العديد من الخواص، تشمل إعداد الجزيئات، النقاء والتنوع. والمعلومات الرئيسة بالنسبة لتطبيقات الكيمياء الطبية هي للتوصل إلى منتج بنفس تعقيد - الطبيعي في مكتبة الجزيئات. ويشمل ذلك كل من التحكم في الهندسة المعمارية، الأبعاد الثلاثة، وكثافة المجموعات الوظيفية وبالأخص تلك التي تشبه ريبطات لتفاعلات

أهداف المنتج الطبيعي للبروتين والحمض النووي. في بعض السياقات ربما يرغب أحدهم في صلابة محكمة، تراكيب ثلاثية الأبعاد، بينما لعرقلة تفاعلات البروتين - البروتين أحدهم ربما يرغب في جزيئات مسطحة مع وظائف موزعة. وفي جميع الحالات كلما كان العدد أكبر في عدد الجزيئات المتنوعة في المكتبة كلما كانت احتمالية الضربة الموجبة التي سوف يحصل عليها في أي مقايضة.

تلخص الاستعراضات المؤخرة بواسطة أريا وآخرون (Arya *et al.*, 2001, 2001) بعض النهج المستخدمة لبناء مكتبات متنوعة حول قوالب مختلفة التي تثبت العمارة. وعلى سبيل المثال، أنتجت مجموعة تشييرير قالب التراسيكلين لتصنيع المكتبة، بدأ من المنتج الطبيعي حمض شيكميك (shikimic acid) وانتهاء بمكتبة تقدر بحوالي مليوني عضو (تان وآخرون 1998، Tan *et al.*، تان وآخرون 1999، Tan *et al.*) (الشكل ١٦، ١). والنهج الثاني، أيضاً من مجموعة تشييرير (ليي وآخرون 1999، Lee *et al.*)، استعمل إستراتيجيات غلق - حلقة الاستبدال والإحلال (ring-closing metathesis strategies) لإيجاد قوالب حلقية كبيرة (macrocyclic templates) مع تعقيد وتنوع محكم (الشكل ١٦، ١). وفي كل من هذه النهج، قدمت مجموعة وظيفية عالية التنوع في هياكل العمارات والتعقيدات المتميزة. وهذه نلر لأنواع النهج التي من المحتمل أن تولد منتجات بخواص - تشبه الطبيعية في المكتبات الاتحادية الاصطناعية. وبإمكان هذه النهج أن يستخدم التفاعلات المحاكية الحيوية للحصول على منتجات نهائية تقريبية التي تشبه المنتجات الطبيعية ولكن بتنوع كبير في المستبدلات التي لا توجد في الطبيعة. وعلى سبيل المثال، شاير وزملاؤه (Shair and colleagues) (ليندسلي وآخرون 2000، Lindsley *et al.*) وصفوا نهج لسقالات (هياكل) بينزودانثيون (benzoxanthene) مثل تلك التي توجد في المنتج الطبيعي كاربانون (carpanone)، ولقد جُمع نيكولو وآخرون (Nicolaou *et al.*, 2000a, 2000b, 2000c) المكتبات الاتحادية للمنتجات التي تشبع - الطبيعية المشتقة من بينزويرانات (benzopyrans).

قوائم المكتبات التي بنيت من السقالات الخاصة، مثال، تلك المعروفة بأنها تثبط بروتيازات، كينازات، فوسفاتازات، وغيرها من الإنزيمات متوفرة (مثال، دولي 2000، Dolle)، وبالإمكان اختبار هؤلاء ضد الأمثلة البكتيرية الجديدة. وقد لاحظ دولي (Dolle) كذلك مكتبات ذات أهمية خاصة للجهود المضادة البكتيرية، وتشمل بعض التي صُممت ضد إرم - رنا مثيل ترانسفيراز Erm rRNA methyltransferases (الفصل العاشر) وضد المضخات المتعددة المقاومة للدواء (الفصل التاسع). ولقد لخص هال وآخرون (Hall *et al.*, 2001) الأدبيات عن المكتبات الكيميائية التي بنيت مؤخراً لتحايي قوالب وهياكل (سقالات) المنتج الطبيعي، وتشمل سيكلوسيرين (cycloserine)، تشالكونات (chalcones)، إيبوثيولون (epothilone)، وفانكوميسين. جميع المؤشرات تدل على أن مكتبات الكيمياء الاتحادية المركزة ستظل مستعدة. ولقد وصف ترياس (Trias, 2001) نهج الكيمياء الاتحادية لتعظيم الاستفادة من النشاط في مرشحات المضاد الحيوي الممتد - المدى أوكساسوليدينون، وكذلك لتحويل فحص المركبات المكتشفة إلى الموجة لتثبيط بيتيد ديفورميلاز (peptide deformylase) (الفصل الخامس عشر).

ولقد لاحظ ويس وآخرون (Weiss *et al.*, 2001) بأن أجيال الموجهات هي فقط نقطة بداية للكيمياء الطبية وحددت العديد من المهام والاختناقات في جهود الكيمياء الطبية في تطوير الدواء التي يمكن تطبيقها لتطوير عوامل مضادة جراثومية جديدة. وعليه، فاكشاف أهداف جديدة ومركبات مكتشفة للفحص الأولي ضد هذه الأهداف، التي وصفت في هذا الفصل والفصل السابق، بحد ذاتها لن ينتج عنها أدوية جديدة أو تقصير الوقت للموافقة ما لم يؤدي التحسين الأمثل ودورات التطوير القبل السريري والسريري أن يكون كذلك عاجلاً في الوقت والكفاءة.



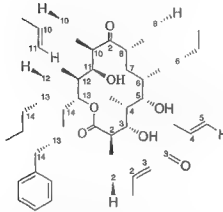
"unnatural natural products". إجراء إعادة البرجة الاتحادية على نطاق واسع سوف يتطلب أعداداً كبيرة من كتل جين polyketide synthase (PKS) و peptide synthetase (NRPS) غير اليربوسومي، وفهم القواعد للقص واللصق لتحقيق أقصى قدر من الوحدات المنطوية ذاتياً، والطرق السريعة لخلط الجين. ويجري إحراز تقدم في كل من هذه الجبهات الثلاث. وأفاد ستروهل (Strohl, 2001) بأن ١١٥ كتل جينات للبناء الحيوي للمنتج الطبيعي معروفة، وبحوالي النصف تمثل كتل النوع I والنوع II PKS. ومن الكتل الـ ١١٥، ٧٠ كانوا من المتسلسلات. وقد بذلت الجهود لإيجاد تسلسلات مسبار أحادي النيوكليوتيد (oligonucleotide probe sequences) الذي له استفاضة عالية لاتساخ كل من كتل جين PKS البكتيري والفطري (نيكولسون وآخرون (Nicholson *et al.*, 2001) لزيادة عدد كتل البداية. فقد قدر ما بين ١٪ من المكروبات في التربة والبيئات المائية ربما تكون قابلة للتزريع في المختبر. ولتجنب فقدان ٩٩٪ من التنوع المكروبي لجينات البناء الجيوي للمضادات الحيوية، فانتساخ ٥٠- إلى ١٥٠ kb مدرج من عينات الكائن غير القابل للتزريع قد أحرز تقدماً. تقنيات خلط- دنا (DNA-shuffling techniques) لتسريع التشوؤ الاندمامي بين الكتل قد تم تخفيضها للممارسة، على سبيل المثال، بواسطة الفريق العلمي عند ماكسيجين (Maxygen) (زانج وآخرون (Zhang *et al.*, 2002).

### البناء الحيوي الاندمامي في البوليكتيدات

مع توفر كتلة البناء الحيوي لإيرثروميسين خلال العقد الماضي، هذا النظام كان العمود الفقري لتطوير وتكرير إعادة البرجة الجينية للماكينة الإنزيمية، مع التركيز الأولي على خط تجميع الوحدات الفرعية الثلاث ديوكسيإيرثرونوليد بي سينثاز (deoxyerythronolide B synthase (DEBS) (الشكل ١٢.١٦) لإنتاج العضو-١٤ ماكروليد 6-DEB. الطفرات في كل وحدة حفازة تقريباً (ketosynthase (KS), acyltransferase, ketoreductase, dehydratase, enoylreductase) من الوحدات الفرعية DEBS1,2 و ٣ قد تمت هندستها وتحليل تشكيلات المنتج المتغير. (الشكل ١٦.٢) يلمخص التغييرات التي نفذت عند المواضع ٢-١٣ من هيكل ماكرولاكتون لـ 6-DEB (كاتز 1997: ستروهل (Strohl, 2001).

بإمكان التحكم في حالة الأكسدة لأي بيتا-كربون ( $\beta$ -carbon) في أي من دورات الاستطالة، كما يمكن استخدام المولنيل أو ميثيل المولنيل عند أي موقع إمتداد (extender site). ووحدة التحميل قد تم تجاوزها خلال الطفرة لإبطال نشاط حقل KS في حقل التحميل والمغلنية الخارجية أسيل داي كيتيد ثيولسترز (acyl diketide thioesters). ويمكن للمرء أيضاً دمج حقول تحميل مختلفة لتغيير وحدات البداية التي تم إدراجها.

لجعل البداية نحو إعادة البرجة الاندمامية (الاتحادية)، فقد استعملت مجموعة كوسان للعلوم البيولوجية (Kosan Biosciences) نظام-الثلاث بلازميدات (three-plasmid system) لخلط طفرة واحدة فوق كل من وحدات DEBS الفرعية الثلاث وأفادت عن مكتبة من بعض ٥٠ متغيراً ماكرولاكتون (مك دانييل وآخرون (McDaniel *et al.*, 1999).

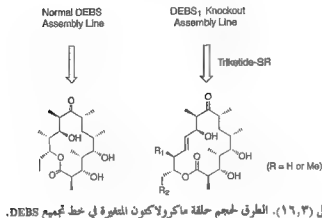


الشكل (١٦، ٧). التغييرات التي تمت هندستها في هيكل 6-DEB macrolide. (بالإذن من ستروهل 2001, Strohl).

في حين أن حجم حلقة إريثرونوليد الطبيعي هو ١٤ ذرة، فخط - تجمع تيلوسين لديه وحدة إضافية وينتج ١٦- العضو لآكتون. وقدم الكشف عن إصدارات العضو - الستة عشرة من هيكل إريثرونوليد في الطفرة المتأناة (tuttering mutant) من سكارابوليسبورا إريثري (*Saccharopolyspora erythrae*) (ويلكينسون وآخرون Wilkinson *et al.*, 2000) وكذلك بواسطة تغذية كيتيد الثلاثي (ترايكيتيد) (triketide) في مكان دايكيتيد (كيتيد الثنائي) (diketide) إلى وحدة التحميل المعطلة لخط تجمع DEBS (الشكل ١٦، ٣) (كينوشيتا وآخرون Kinoshita *et al.*, 2001)، مما يشير إلى تحقيق حجم الحلقة الكبيرة (macro ring size) المتغير عن طريق تحليل حقل ثيواستر عند نهاية C- للوحدة الفرعية DEBS3. وبينما نغذت التقنيات بشكل مكثف فقط في نظام DEBS حتى الآن، هناك سبب يدعو إلى الاعتقاد بأن هذه النهج سوف تكون عمومية لإعادة هندسة خطوط تجمع PKS الأخرى، في نماذج اندماجية.

تشمل تفاعلات الحياكة الآخرة على الإريثرونوليد ماکرولاکتون إثنى سيتوكروم النوع - P450 هيدروكسيلاتات (P450-type hydroxylases, EryF and EryK) لإدخال هيدروكسيلز عند C<sub>6</sub> و C<sub>12</sub> و bis glycosylation عند C<sub>3</sub> (مع P450 hydroxylases (TDP-L-mycarose و C<sub>3</sub> (مع TDP-D-desosamine) (انظر الشكل ١٢، ١٩)). وعديد من سيتوكروم P450 hydroxylases باقية، وربما أن البعض سوف يُضيف عنصر الهيدروجين (hydroxylate) للعضو-١٤ لآكتون مع التغيير الموضعي النوعي. الاحتمالات الاندماجية لارتباط بالغليكوزيل يمكن أن تعمل على مستويين: البناء الحيوي للسكروز منزوع الأكسجين TDP-deoxysugar ومن ثم عمل الغليكوزيل ترانسفيرازات (Gtfs). والمسارات من النيوكليوتيد سكر داي فوسفور TDP-glucose إلى TDP-D-desosamine وإلى TDP-L-mycarose معروفة وحددت الإنزيمات المفردة التي تعمل على نزع الأكسجين (deoxygenations) الصافي عند C<sub>6</sub>, C<sub>4</sub> و C<sub>2</sub> كما هي التي تقسم (epimerizing) C<sub>5</sub> وتؤين اختزالياً (reductively aminating) C<sub>3</sub> (انظر الشكل ١٢، ٢٠).



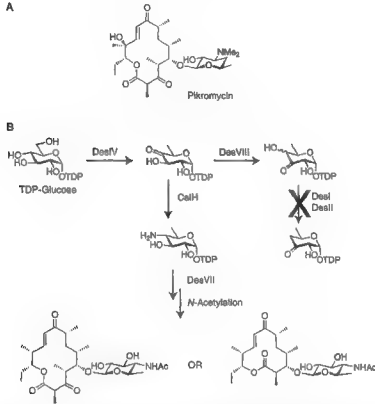


من المحتمل طرد واحد أو أكثر من هذه الجينات واستبدالها بإنزيمات أخرى ومعالجة مسارات TDP-deoxyhexose في المختبر وفي الجسم الحي. وعلى سبيل المثال، في المتسلسلة فيتزويلي في مسارات البناء الحيوي لبيكروميسين (pikromycin)، ٣-كيتو ماكروليد المتغير لمستبدل 3- $\alpha$ -mycosyl (الشكل ١٦,٤) (انظر إكسو وشيرمان Xue and Sherman, 2001، للمراجعة)، توجد جينات البناء الحيوي لديسوسامين في كتلة PKS.

ولإثبات بأن مسار TDP-desosamine يمكن إعادة برمجته، طرد جين *des I* المستبدل بجين *calH* من مسار البناء الحيوي كالكياميسين (calicheamycin) (الشكل ١٦,٤). وهذا تم تمييزه بواسطة إنزيمات المصّب، مجموعة أمينو N-acetylated الجديدة (للحماية - الذاتية ٩)، والسكر الجيد المنقول إما إلى C<sub>3</sub> من ماكروليد الحلقة-١٢ أو إلى C<sub>5</sub> من keto-14-membered macrolide 3-كيتو لينتج مضادين حيويين جديدين (زهاو وآخرون 1999، Zhao *et al.*). وإذا حذف CaH، بعدها يثبت سكر د-كوينوفوس (D-quinovose sugar) عند C<sub>5</sub> (بورسيفا وآخرون 1999، Borisova *et al.*). وهذه النتائج تمهد الطريق للمعالجة الاندماجية لتراكيب وسيط TDP-deoxysugar. كما أنها أشارت إلى أن DesVII، بيكروميسين غليكوزيل ترانسفيراز (pikromycin glycosyltransferase)، يظهر ما يكفي من الاختلاط الذي سيتقل مناظرات سكر ديوكسي من الركائز الطبيعية TDP-hexose. ولقد قام مك دانييل وزملاؤه (تاتج ومك دانييل Tang, and McDaniel, 2001، رودريجوز ومك دانييل Rodríguez and McDaniel, 2001) بإعادة بناء مسار البناء الحيوي لـ DTP-desosamine في المضيف غيرا لمتجانس وثبت أن عديداً من المركبات في المكتبة والمبينة في الشكل (١٦,١٢) يمكن بذلك أن تكون غليكوزيليتيد لتكتسب نشاط المضاد الحيوي. وكثير من Gtfs من كتل PKS يمكن انتساخها واختبارها للتشويش والتساهل تجاه كل من تراكيب أجليكون ماكروليد، كالمكتبة في الشكل (١٦,٣)، وتجاه المتغير aminohexoses و TDP-deoxyhexoses.

وباختصار يمكن لأحد في الوقت الحاضر تغيير حجم حلقة ماكروليد، الوحدات المبدئية لماكروليد، الهوية المستبدلة وحالة الأكسدة تقريباً في كل موقع كربون على الماكروليد، هوية ديوكسي-أمينوهيكسوس، وموضع

ارتباط بالغليكوزيل. ومن قبيل هذه الإستراتيجيات الاندماجية من الواجب أن تكون مُتاحة في وقت ما لتوليد مكتبات البناء الحيوي من بضع عشرة من الآلاف من ماكروليدات الجديدة.



الشكل (٤، ١٦). المعالجة لسارات TDP-deoxyhexoses في السلسلة فيريولي، (A) الانفجار إلى شطر ديسوامين علما يبقى الموضع -٣ ككيون في بيكروميين، (B) استبدال *dseI* بواسطة *calH* لطيفر السكريات على هيكل ماكروليد.

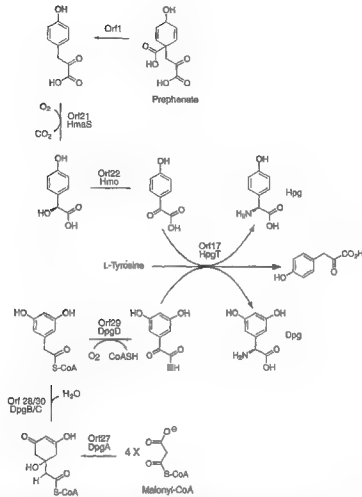
أحد القيود العملية هو الطول الخطي لخطو - تجميع PKS الكبيرة. وحصل أن وُزعت على وحدات فرعية متعددة (مثال، 3، 2، 1، DEBS). ومن ثم يتوجب على الوحدات الفرعية العثور على بعضها بعضاً والتوجيه للنقل الموجه للسلسلة النامية اتجاهياً بين الوحدات الفرعية. وهذا يمكن أن يكون ذا قيمة في إعادة البرمجة الاندماجية، شريطة أن أحد بإمكانه حل المنطق الذي بواسطته أن نجد الوحدات الفرعية بعضها بعضاً وتصطف. خوسلا وزملاؤه Khosla and colleagues (جوخلي وآخرون Gokhale *et al.*, 1999) قد صنعوا البداية بواسطة اكتشاف وجود المناطق الرابطة للنهاية C- والنهاية N- في الوحدات الفرعية DEBS وإظهار قابليتها للنقل. وفي حالة تعميم هذه الإستراتيجية، سيكون بالإمكان تشييد مكتبات لوحات PKS مع روابط مناسبة لتوجيه تفاعل الوحدة-الوحدة وزيادة احتمالية نقل السلسلة الكفو والنمو عبر الواجهات للوحدة والوحدة الفرعية في مكتبات الوحدات التي تمت هندستها.

### البناء الحيوي الاندماجي في NRPS وفي هجينات NRP-PK

توجد كتل جين NRPS في كل من البكتيريا والفطريات. ولقد تم وصف عشرات التسلسلات ومئات الكتل يرجح أن تكون متسلسلة في المستقبل القريب، منتجة قوائم الأجزاء لتبادل الوحدات ولاختبار نهج البناء الحيوي الاندماجي لمضادات الببتيد الحيوية الجديدة. واحدة من السمات الجذابة لمنتجات الببتيد الطبيعية NRPS هي التنوع الكبير في موحودات الحمض الأميني (وحمض هيدروكسي) التي دُججت، >100، مقارنة مع الحد ٢٠ للأحماض الأمينية المولدة للبروتين (proteinogenic) في الببتيدات الريبوسومية.

تم العثور على الجينات البنائية الحيوية لموحودات الحمض الأميني غير المولد للبروتين مدفونة (مضمنة) في كتل NRPS، مثل أربعة إنزيمات ٤-OH-فينيل-جليسين (4-OH-phenyl-glycine) وأربعة أطر قراءة مفتوحة أخرى للبناء الحيوي لـ (3,5-(OH)<sub>2</sub>-phenylglycine) (الشكل ١٦,٥) في صنف الفانكوميسين وتيكوبلانيين من منتجي غليكوببتيد (هوبارد وآخرون 2000، Hubbard *et al.*، هوبارد والاش 2002، Hubbard and Walsh، فان واجينينجين وآخرون 1998، Van Wageningen *et al.*). ويبدو بأن هذه الجينات تحركت ككاسيت (cassette) للكائنات الأخرى التي تصنع هذه الأحماض الأمينية غير العادية، وهذا يقترح إستراتيجية لتصدير قدرة البناء الحيوي هذه إلى أي كتلة. وإذا كانت كاسيتات ترادف الجينات هي القاعدة لبناء الحمض الأميني غير المولد للبروتين، فالقابلية لتحريك مثل هذه الكاسيتات سوف تساعد في جهود إعادة البرجة لخطوط تجمع NRPS.

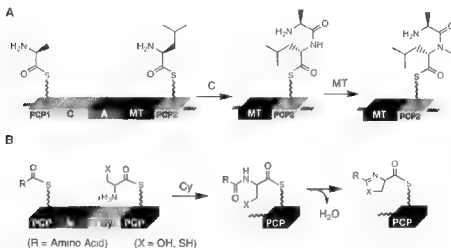
ولقد بدأ ماراهيل وزملاؤه (Marahiel and colleagues) (للمرجعة، انظر دويكيل Doekel وماراهيل ٢٠٠١، كونز Konz وماراهيل Marahiel ١٩٩٩) للعمل من خلال القواعد العملية للجمع حقول ووحدات NRPS الحفازة وقد أعادوا إنشاء هجين الأنظمة الثنائية - والثلاثية النموذجية (di-and trimodular systems)، مع مجالات فلق سلسلة ثيوإستيراز (chain-cleaving thioesterase domains) الموضوعة عند خطوط التجميع هذه المعاد إنشاؤها. وهذا النجاح يزيد احتمالية النهج الاندماجي لمبادلة الوحدة، الإدراجات والحذف لزيادة أو التقليل من عدد الأحماض المينية التي تم دمجها في داخل السلسلة النامية وتغيير هويتها عند مواضع محددة. وقد تم فم شفرة منطق الترميز لتمييز الحمض الأميني بواسطة أدلة (adenylation) (A) الحقول لخطوط تجمع NRPS (ستاكيلهوس وآخرون 1999، Stachelhaus *et al.*)، ساعماً بإجراء إعادة البرجة في الموضع. ولخطوط التجميع التي تولد فضالات D-amino acid residues عن طريق حقول فوق التقسيم (epimerization domains)، مثال التكوين (الشكل) D,D,L,D,D,L,L-configuration لفانكوميسين الببتيد السباعي أجليكون (vancomycin heptapeptide aglycone)، ومن الممكن تعطيل نشاط حقول إبيميراز (epimerase) لإدماج التكوين L- or D- configuration عند أي موضع. ومن المفترض بأن حقول التكثيف (C) في مثل خطوط التجميع هذه التي تعتبر مصبات للحقول B أن تكون نوعية (انظر هوبارد والاش 2002، Hubbard and Walsh). وبالإمكان استخدام هذه في التجميع النموذجي ككواشف عامة لصنع روابط بيتيد D,D,L,D,D,L- في إطالات السلسلة.



الشكل (١٦,٥). أربعة كاسيتات - إنزيم للجيل الجديد من موجودات 4-OH-PheGly و 3,5-(OH)<sub>2</sub>-PheGly للبناء الهيكلي لفانكومييسين وتيكوبلاين.

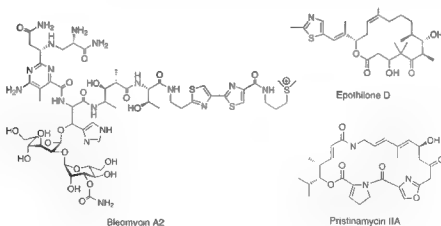
وكما هو الحال في خطوط تجمع PKS، هناك إنزيمات حياكة في خطوط تجمع NRPS، بعضها مدفون في *cis* والبعض يعمل في *trans*. وعلى سبيل المثال، N-ميثيل ترانسفيرازات (N-methyltransferases) (حقول MT) التي تنتج السبعة أحماض الأمينية (N-methyl amino acids) في أنديكابتيد سيكلوسبورين أ الحلقي (cyclic undecapeptide) cyclosporine A توجد في أربعة - حقول (C-A-MT-PCP) (البروتين الحامل لببتيد) لوحدة الإطالة (الشكل ١٦,٦). مما يشير إلى قابلية نقل تكوين رابط الببتيد ونشاط مثيلة -N-methylation. NRPS. وبعض من أكثر المنتجات الطبيعية فضول لها خمس - حلقات كبرت وحلقات أكسجين غير المتجانسة، ثيازولات، وأوكسازولات، التي تنشأ من تخليق السلاسل الجانبية لسيستينيل -SH (cysteiny-SH) و سيريل -OH (seryl-OH) على رابط ببتيد السابق كاريونيل (الشكل ١٦,٦)، الحفاز عن طريق تخليق حقول (Cy) والتي تعد متغيرات حقول

التكثيف المكونة - لرابط بتيد (Cy-A-PCP modules). وهذه قد تكون عناصر محمولة في النهج الاندماجي لخطوط تجميع NRPS. إنزيمات الحياكة لحزبات NRP يمكن أن تكون hydroxylases, oxidoreductases, و glycosyltransferases



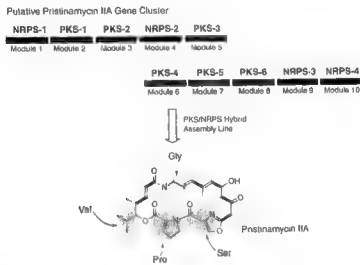
الشكل (١٦,٦). إنزيمات الحياكة المدونة في *cx* في خطوط تجميع NRPS: (A) N-methyl-transferases, (B) حقول التحليق لصنع حلقات اوكسازولين و ليازولين.

من بين المنتجات الطبيعية الأكثر فائدة هي هجينات PKs و NRPs وتشمل بليوميسين (bleomycin)، إبيوثيلون (epothilone)، وبريستاميسين II (الشكل ١٦,٧). حوالي درزينة من خطوط تجميع هجين PKs-NRPS التي قد تم مؤخراً تسلسلها (انظر دويكيل Doeckel، وماراهيل Marahiel ٢٠٠١، دو وآخرون 2001، Du *et al.*، هوبارد ووالش 2002، Hubbard and Walsh)، تظهر المنطق عن كيفية تمازج هذه الوحدات والحقول.



الشكل (١٦,٧). جزينات الهجين NRP-PKS: بليوميسين A2، إبيوثيلون D، و بريستاميسين IIA.

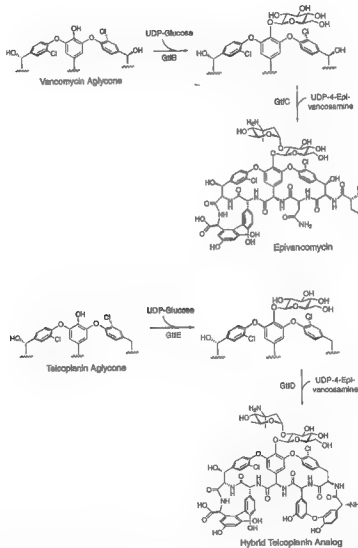
إعادة تكوين السطوح البينية لـ PKS-NRPS قد تم إنجازها بواسطة المركبات النقية في المختبر لتأسيس أنماط التمييز لحقول إطالة - السلسلة K.S.C. المحفزة (ميلر وآخرون 2002, Miller *et al.*, باتيل ووالش Patel and Walsh, 2001)، كتأسيس للإستراتيجيات الاندماجية التي سوف تصنع تراكيب هجينة PK-NRP-PK جديدة. وعلى سبيل المثال، يعدُّ مركب بريستيناميسين II (الشكل ١٦.٨) من المضاد الحيوي هجين سينيرسيد NRP-PK- NRP-PK hybrid. ويفترض بأن خط التجميع يمتلك ١٠ وحدات لانتقاء الأربعة أحماض الأمينية (Gly,Ser,Pro,Val) وستة (ميثيل) موحدات المانويل-CoA (الشكل ١٦.٨). وفي ترتيب الوحدة المفترض، سوف ينشط Gly بواسطة الوحدة ٤ والبيبتيد الثلاثي Ser-Pro-Val tripeptide المتوقع بواسطة الوحدات ٩، ١٠ و ١١. والقسم الأول PK سوف ينشأ من الوحدات ٢ و ٣. وبعد إدخال جليسين، المط (المد) لأربع وحدات PK، الوحدات ٥ - ٨، سوف يُجمع جزء سلسلة PK ذات التسعة - كربون المتقدمة لوحدة البيبتيد الثلاثي Ser-Pro-Val. وجميع الأربعة وحدات PK-NRP-PK-NRP سوف تستطيع في الأصل أن تُعالج على حدة واندماجياً.



الشكل (١٦,٨). بريستيناميسين II هو منتج خط التجميع الهجين المفترض من الوحدات PK-NRPS-PK-NRP.

وبالتناظر مع مضادات ماكرولاكتون الحيوية التي ذكرت أعلاه، بعض NRPs كذلك مرتبطة بالهيدروكسيل (hydroxylated) مرتبطة بالغليكوزيل (glycosylated) في خطوات النضوج الإنزيمي في ما بعد - خط - التجميع. وبالإمكان كذلك إجراء النهج نفسه لاختبار النوعية المبدئية لستوكروم P450 hydroxylases والمرحلين لتغيير مجموعة غليكوزيل، معالجة مسار TDP-deoxyhexose واستبدال غليكوزيل توانسفيراز و/أو إرخاء النوعية. وعلى سبيل المثال، الإنزيمات في المسار الذي يحول TDP-glucose إلى TDP-L-epivancosamine قد وصفها جميعاً (تشين وآخرون Chen *et al.*, 2000)، وإستراتيجيات الاستبدال أو الحذف كما شرحت أعلاه في نظام بيكروميسين بالإمكان محاولتها

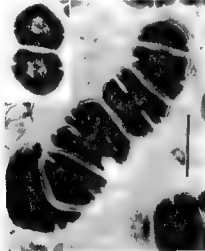
لتغيير هوية السكر. ومن المحتمل بأن أحدهم يستطيع أن يستعمل مكتبة TDP-deoxyhexoses و amino-hexoses- ومجموعة من إنزيم ناقلة الغليكوزيل (غليكوزيل ترانسفيرازات) (لوسي وآخرون 2001، Losey *et al.*، سولينبيرج وآخرون 1997، Solenberg *et al.*) لخرقة مكتبة ببتيد أغليكونات وإيجاد تواليف جديدة. وكمثال، أغليكون من الفانكوميسين قد تم إضافة الغلوكوز له (glycosylated) مع TDP-glucose وبعد ذلك epivancosamine عن طريق اثنين GtfS، واحدة من كتلة فانكوميسين (GtfB) واحدة من كتلة كلوروارموميسين (GtfC) (الشكل ١٦،٩) لإنتاج غليكوببتيد إبيفانكوساميسين غير الطبيعي (epivancosamycin). وتعمل نفس GtfS الاثنان على أغليكون من تيكوبلانين لنتج نظير تيكوبلانين جديد.



الشكل (١٦،٩). الباء الحيوي الإنزيمي لمجين الغليكوببتيدات في صنف فانكوميسين بواسطة تواليف TDP-sugars ومبادلات غليكوزيل ترانسفيرازات.

### المُمرضات المسببة للمشكلات

- المكورة العنقودية المقاومة للمثبيلين (MRSA).
- المكورة العنقودية الذهبية المقاومة للفانكوميسين (VRSA).
- المكورة البرازية المقاومة للفانكوميسين (VRE).
- المكورة العقدية الرئوية المتعددة المقاومة - للدواء.
- المتفطرة السلية المتعددة المقاومة - للدواء.
- السالمونيلا المتعددة المقاومة - للدواء (مثال، السالمونيلا من نوع السلالة DT104 المقاومة للأميسيلين، كلورامفينيكول، سترپتوميسين، سلفوناميدات، تراييثوبريم، تتراسيكلين، كاناميسين، سيروفلوكساسين).



المُمرضات المسببة للمشكلات. الفحص بالمجهر الإلكتروني للمكورات المعوية المقاومة - للفانكوميسين التي تعرضت للفانكوميسين، مع إدراج خلية كونترول تامة النمو في مرق تريبتيكاز فول الصويا وحيدة. وحدة بار =  $1\mu\text{m}$  (بالإذن من لوريان وفيرنانديز 1997).



## السياقات والتحديات لاستعمال المضادات الحيوية الجديدة

### CONTEXTS AND CHALLENGES FOR THE USE OF NEW ANTIBIOTICS

الجهود التي شرحت في الفصلين الخامس عشر والسادس عشر، لتحديد هوية وتقييم الأهداف الجزيئية والخلوية الجديدة للمضادات الحيوية لإيجاد تراكيب جزيئية في الأصناف الأدوية المضادة للجراثيم الجديدة، سيتم تناولها في سياق البكتيريا المُمرضة المقاومة - للدواء؛ إضافة إلى العدوى الناشئة الجديدة. الأعمار الزمنية المفيدة للمضادات الحيوية الحالية والمستقبلية سوف تعتمد على سرعة تطور المقاومة ومن ثم على أنماط استعمال المضادات الحيوية، ليس كمعالجات للإنسان فحسب ولكن كذلك في تربية الحيوانات الداجنة، الزراعة، والبستنة. ما لم يتم دعم البنى التحتية للصحة العامة والمراقبة العالمية وتُطبق نظم رصد البكتيريا المُمرضة قبل اختيار المضادات الحيوية فإننا سنهدر فرصة الاستغلال الأقصى لفعالية المضادات الحيوية.

في عصر ما قبل المضاد الحيوي، بعض من ١٠٠ عام مضى، كانت العدوى البكتيرية هي الأسباب الثلاثة الرئيسية للموت في الولايات المتحدة: الدرن (السل)، الالتهاب الرئوي وعدوى الجهاز الهضمي (ويزيل وإدموند (Wenzel and Edmond, 2000) قدرت بنحو ٣٠٪ من الوفيات، وكان متوسط العمر المتوقع للإنسان هو ٤٧ عاماً (كوهين 2000, Cohen). أما في نهاية القرن العشرين وفي العالم المتقدم فلم يتبق سوى عدوى الجهاز التنفسي السفلي من ضمن أهم عشرة أسباب للوفيات. وبتحديد أكثر، في الثمانية عقود الممتدة من ١٩٠٠ - ١٩٨٠م، كانت وفيات الأمراض المعدية في العالم المتقدم قد هبطت من ٧٩٧/١٠٠.٠٠٠ إلى ٣٦/١٠٠.٠٠٠؛ وذلك نتيجة تحسين الصحة العامة وأثر المعالجات المضادة للجراثيم. ولكن شهدت الخمسة عشر عاماً من ١٩٨١ - ١٩٩٥م ارتفاع في معدلات الوفيات من تلك ٣٦/١٠٠.٠٠٠ إلى ٦٣/١٠٠.٠٠٠ (ارتفع متوسط العمر إلى ٧٦ عاماً)، مما يعكس التغيرات في أنماط الأمراض المعدية (كوهين 2000, Cohen). لم يكن للعالم النامي مثل قصة النجاح هذه، مع ١٣ مليون حالات وفيات متعلقة بالأمراض المعدية في ١٩٩٨م، تقريباً ربع مجموع حالات الوفيات العالمية والأمراض البكتيرية الكبيرة - الالتهاب الرئوي، والسل، والأمراض الإسهالية - ما تزال سائدة في العالم النامي.

## شروع الاستعمال غير المرشد للمضادات الحيوية له عواقب على مقاومة المضادات الحيوية

بالإضافة إلى الأمثلة التي أدرجت أعلاه وفي مكان آخر في هذا الكتاب، حذر وينزيل وإدموند (Wenzel and Edmond, 2000) بأن الدراسات الوبائية أشارت إلى أن معدل حدوث الالتهاب الرئوي المكرواتي العنقودي (pneumococcal pneumonia) ارتفع في الأطفال الصغار، في خلال فترة ١٥- عاماً انتهت في ١٩٩٨م في غرب فيرجينيا، من ٢١/١٠٠,٠٠٠ إلى ٤٥/١٠٠,٠٠٠. وهذه الزيادة لم تكن محصورة فقط على السكان من الأطفال. فمجموعة المسنين، البالغة من العمر من ٧٠ - ٧٩ عاماً، كذلك شاعلت أكثر من ضعف معدل الحدوث، من ١٥/١٠٠,٠٠٠ إلى ٣٩/١٠٠,٠٠٠. علاوة على أن المرضى المصابين بفيروس نقص المناعة البشري (human immunodeficiency virus) ذوي الالتهاب الرئة الغزوي (invasive pneumonia) كان معدل الوفيات لديهم أعلى بثمانية - أضعاف تقريباً إذا كانت المكورة الرئوية مقاومة للمنبسلين، مُعززة التفاعلات الممتية بين المُمرضات الجديدة والقديمة. ولاحظ وينزيل وإدموند (Wenzel and Edmond) كذلك بأن للعداوى المستشفوية (nosocomial infections) لجرى الدم معدلات وفيات عالية ٢١٪: في العداوى المكوراتية العنقودية السالبة للكواغيزالاز (سالبة للممخر) (coagulase negative)، ٢٥٪ في عداوى المكورة العنقودية الذهبية، و٢٥٪ في العداوى المكوراتية البرازية. معدلات الحدوث العالية لمقاومة المضاد الحيوي في هذه المُمرضات الثلاث الممتية (مع ٨٠٪ منها مقاومة للمنبسلين، ٣٠٪ مقاومة للمنبسلين، و٢٠٪ مقاومة للفانكوسيسين، بالترتيب) شاركت في تقليل الخيارات المتاحة للعلاج والنتائج السيئة. ومن ضمن سكان الولايات المتحدة البالغ ٢٧٥ مليون نسمة، هناك ١٦ مليون وصفة ٣٢ مليون كيلوجرام من المضادات الحيوية (وينزيل وإدموند (Wenzel, and. Edmond, 2000) وُصفت سنوياً. وفي ١٩٩٢م، ١٨٪ من جميع الوصفات المضادة للبكتيريا في الولايات المتحدة كانت لعداوى الجهاز التنفسي. وأحد النتائج كان الضغط الانتقائي (selective pressure) القوي في المكورة العقدية المقاومة - للدواء.

لقد وُصف البشر مؤخراً بالقوة الأعظم تأثيراً على التطور في العالم (بالومي (Pahumbi, 2001)، مع تغييرات دراماتيكية في بيئة العالم والمحيط الحيوي العالمي كنتيجة للأنشطة والتدخلات البشرية. التغييرات التطورية السريعة التي يحدثها تشمل الضغوط لنقل مقاومة المضاد الحيوي نادرة الحدوث في الجهورات البكتيرية الطبيعية إلى انتشار - عالٍ والاكسباس السريع لسلمات مقاومة جديدة. يبين الجدول (١.١) في الفصل الأول السنة الأولى لنشر المضادات الحيوية التي قد كانت لها الأهمية الكبرى في معالجة الإنسان في السنوات السبعين الماضية وتواريخ اكتشاف المقاومة السريرية المعتدة، تمتد من ١ - ٣ سنوات قصيرة للعديد من أجيال بيتا - لكتامز إلى ٥ سنوات للتراسيكلين إلى ٣٠ + للفانكوسيسين. في حين أن أطنان هائلة من إنتاج المضاد الحيوي من المحتمل أن للإنسان دور رئيس في إشعال فتيلة الآلة النشوئية للمقاومة الجرثومية الوراثية، ولاحظ بالومي ضغط تطوري ناتج عن الاستخدام الواسع النطاق

للمضادات الحيوية في الوقاية في تربية المواشي، تقدر من ٢٥٪ إلى ٥٠٪ من جميع إنتاج المضادات الحيوية. وقد أضاف لذلك الجرعات الناقصة وقتل المرضى في إكمال دورات العلاج كمعامل تُسرّع بتطور المقاومة فضلاً عن التقرير (نايكويست وآخرون 1998, Nyquist *et al.*) بأن ما يصل إلى ثلث وصفات المضادات الحيوية التي كتبها أطباء الأطفال في الولايات المتحدة هي لأمراض الطفولة الفيروسية حيث لم يكن هناك استجابة مضادة بكتيرية ممكنة ميكانيكياً. بالومبي ذكر عدة طرق لكبح وتيرة تطور المقاومة للمضادات الحيوية وتقع هذه الطرق تحت ثلاثة اتجاهات: (١) تنقيص التفاوت في السمة المتعلقة - باللياقة، (٢) الحد من الاختيار الاتجاهي (directional selection) (٣) تنقيص وراثية السمة المتعلقة - باللياقة (fitness-related trait). وفي الفئة الأولى أوصى بالمعالجة التوليفية (combination therapy) (مثال، سلفوناميد - تريإيثوبريم) والمراقبة المباشرة بواسطة النظام الطبي لضمان الجرعات الكاملة، كما هو المعيار في العلاج المتعدد للدرن. وللحد من الاختيار الاتجاهي، جادل بالمي بأن تفاوت اختيار المضادات الحيوية، الحد من التعرض للاختيار (مثال، حجب الأدوية - الملاذ الأخير مثل الفانكوميسين من الاستخدام العام)، وتجنب المضادات الحيوية واسعة - المدى سوف يبطئ التطور الميكروبي. وتتناول عدد من هذه المسائل أدناه، وتشمل المناقشة حول تواليف ودورات (rotations) المضادات الحيوية، وخطأ استعمال مناظرات فانكوميسين في التغذية الحيوانية، والمسئولية عن الاستخدام الواسع النطاق للكينالوسبورينات الآمنة جداً، والواسعة - المدى.

### المُمرضات متعددة المقاومة للدواء والتحديات للمعالجة المضادة للبكتيريا

#### الأمراض البكتيرية الناشئة

من بين التحديات في تدبر العدوى البكتيرية هي تفشي الأمراض العدوائية الجديدة وظهور مشاكل في البكتيريا المطاعمة المعروفة والبكتيريا المُمرضّة عن طريق اكتساب محددات مقاومة جديدة. تقرير الأكاديمية الوطنية للعلوم (National Academy of Sciences)، "الأمراض الناشئة والمعاد - نشوئها" "Emerging and Re-emerging diseases": التهديدات الميكروبية العالمية في التسعينيات (Global Microbial Threats in the 1990s) سردت الأمراض المعدية التي أصبحت معروفة منذ ١٩٧٣م (ديفيس ولديربيرج 2000, Davis and Lederberg). والأمراض البكتيرية في تلك الفئة مقبسة في الجدول (١٧,١) وتشمل أشكال متلازمة الصدمة السمية (toxic shock syndrome) من المكورة العنقودية الذهبية، ليجونيلا نوموفيليا (*legionella pneumophila*)، واللولبية البوابية (*Helicobacter pylori*) المسببة للقرحة - المعوية. في عالم السفر الدولي وتغيير مكان العيش، تنشأ أمراض جديدة. حالما يتم تحديد هويتها، معظمها تعالج في الوقت الحالي بالمضادات الحيوية القائمة، ولكن هذا سوف يبدأ الطريق المتسارع لنشوء المقاومة للدواء. ومرافقة لذلك للأمراض الفيروسية الجديدة الناشئة قد لا تتوفر لها علاجات. لاحظ كوهين (Cohen, 2000) بأن التغييرات في

الأنماط المجتمعية تسهم في تغيير أنماط المرض المعدي، مع الزيادة الهائلة في أعداد المرضى منقوصي المناعة الناجمة من عمليات زراعة الأعضاء ووباء فيروس نقص المناعة البشري. وهذا يسمح لمُمرضات من الدرجة-الثانية (مثال، المكورات المعوية والزائفة الزنجارية) لتسبب المرض المهدد - للحياة. ظهور المراكز الضخمة السكانية، مع ١٠ - ٢٠ مليون نسمة في المدن الكبيرة بدون النظافة والمرافق الصحية الكافية، قد وُصف بأنه قبلة موقوتة لظهور أمراض معدية جديدة (جاريت 1995، Garrett). ومن المرجح بأن تنفش الأمراض التي تنتقل عن طريق الغذاء؛ بسبب توفر الأطعمة الجاهزة للأكل والوجبات خارج المنزل. وسيرد في الأقسام التالية انتقال المُمرضات الحيوانية مثل السالمونيلا المعوية ضرب نيفيموريم (*Salmonell enterica serovar Typhimurium DT104*) والإشريكية القولونية *E.coli* O157:H7 خلال منتجات اللحم الملوثة.

الجدول (١٧، ١). الأمراض البكتيرية الجديدة منذ ١٩٧٣م.

السنة	العامل	ملاحظة
١٩٧٧م	<i>Legionella pneumophila</i>	مرض الحاربين القدماء legionnaire's disease
١٩٧٧م	<i>Campylobacter jejuni</i>	مرض معوي، منتشر عالمياً
١٩٨١م	سلالات المكورة المتفردة البنية المنتجة للسم	متلازمة الصلعة السمية
١٩٨٢م	<i>Borrelia burgdorferi</i>	مرض لايم Lyme disease
١٩٨٣م	<i>Helicobacter pylori</i>	مرض قرحة المعدة
١٩٨٩م	<i>Ehrlichia chaffeensis</i>	مرض إيرليكيوز البشري Human ehrlichiosis
١٩٩٢م	<i>Vibrio cholerae</i> O139	سلالة جديدة، الكوليرا الوبائية
١٩٩٢م	<i>Bartonella henselae</i>	مرض خدش-البر الورم (cat-scratch disease) الوبائي المعوي (bacillary angiomatosis)

### البكتيريا المُمرضة المقاومة للدواء في القرن الحادي والعشرون

ظهور المُمرضات البكتيرية الجديدة ترافقها زيادة في الممرضات المعروفة التي اكتسبت ترسانة من المقاومة للأدوية. بعض الفاشيات الحديثة من البكتيريا المقاومة - للدواء وبعض المسائل لإستراتيجيات التحكم بالمضادات الحيوي أثرت أذناه. وقد ذكر، كوهين (Cohen، 2000) كذلك العداوى التالية المكتسبة من المستشفى كمفتاح للتحديات في المعالجة في العقود الأولى من هذا القرن (الجدول ١٧، ٢).

#### MRSA و VRSA

لقد كانت المكورة العنقودية المقاومة للمثبيلين (MRSA) ممرض بكتيري مسبب للمشكلات في المستشفى منذ انتشارها الواسع النطاق في السبعينيات (هيراماتسو وآخرون 2001، Hiramoto *et al.*). وتسلسل مجين سلالة MRSA

(كورودا وآخرون 2001, Kuroda *et al.*) (انظر الفصل السابع) قد أثبت بأن جزيرة المقاومة المضاد الحيوي حوالي ٢١ إلى 67 kb  $SCC_{mec}$  تنتج النمط الظاهري. وقد تطور SCC على مر أربعة عقود منذ اكتشاف MRSA لأول مرة في ١٩٦١م ليستولي على جينات إضافية مقاومة للمضادات الحيوية على البلازميدات المجدولة ويوفر المقاومة المتعددة-للمضاد الحيوي (هيراماتسو وآخرون 2001, Hiramatsu *et al.*). وتطور سلالات MRSA-التهديدية (pre-MRSA strains) إلى مقاومة ميثيسيلين كاملة غالباً ما تشمل طفرة القامع (الكابح) (MecI repressor) أو تسلسل DNA المشغل لينزع قمع (derepress) انتساخ PBP2A (البروتين المرتبط بالبنسيلين 2A) ترانسسبتيداز (الفصل العاشر)، الذي له مثل الانجذاب المنخفض للمثسليين وبيتا لكتامز الأخرى وإشباع PBP2A بواسطة البنسيلين لا يمكن تحقيقه عند التراكيز السريرية للدواء.

التطور الأكثر خطورة هو ظهور سلالات المكورة العنقودية الذهبية المقاومة لفانكوميسين (VRSA). وكانت سلالات MRSA عزلت في ١٩٩٦م في اليابان والتي كانت أيضاً غير المستجيبة للمعالجة بالفانكوميسين (انظر هيراماتسو 1998, Hiramatsu *et al.*). وتلا ذلك، فقد تم عزل سلالات VRSA أخرى من العديد من البلدان (هيراماتسو وآخرون 2001, Hiramatsu *et al.*)، مما يشير إلى الانتشار العالمي. وقد تم وصف تسلسل مجين سلالة Mu50 VRSA (كورودا وآخرون 2001, Kuroda *et al.*)، ولكن الآلية الصحيحة للمقاومة لم تحدد بعد. وهي ليست آلية مقاومة المكورات المعوية - لفانكوميسين (VRE) ذات الخمس - جينات المعيارية (المذكورة في الفصل العاشر)، حيث تنتج نهايات ببتيدوغليكسان D-Ala-D-Lactate ذات الانجذاب المنخفض لفانكوميسين. وبدلاً من ذلك، يبدو بأن سلالات VRSA تطور (تنتج) جدار خلية سميك ويعاير كميات عالية من فانكوميسين عن طريق توفير مواضع ربط إضافية للدواء (ديفيس 1994, Davies).

الجدول (١٧، ٢). البكتيريا المسببة للمشكلات المستعدة على - المستشفى والمجتمع.

المكورة العنقودية الذهبية المقاومة للمثسليين المكورات المعوية المقاومة لفانكوميسين المكورات العنقودية المقاومة للفانكوميسين البكتيريا السالبة - لغرام المقاومة للكاربابامات	العداوى المكتسبة - من المستشفى
المكورات الرئوية المتعددة المقاومة - للدواء السالمونيلا المتعددة المقاومة - للدواء الشيغيلا المتعددة المقاومة - للدواء التييسيرات المقاومة - للفلوروكوينولون الدرن المتعدد المقاومة - للدواء	العداوى المكتسبة - من المجتمع

لا يوجد علاجات جيدة لسلاسل المكونة المعقودة الذهبية التي هي كلا MRSA و VRSA في النمط الظاهري. لاحظ هيراماتسو وآخرون 2001، Hiramatsu *et al.*، بأن MRSA قد تصبح النبيت النهائي في البشر. "من الواضح بأن MRSA تغلبت على جميع المضادات الحيوية المتوفرة وفرضت نفسها بمرض المستشفى النهائي. وبافتراض المرونة الوراثية التي ظهرت في الماضي، فمن الواضح كذلك بأنها سوف تكتسب مقاومة لأي مضادات حيوية جديدة تطورت في المستقبل". واختتموا بأن الطريق الوحيد للأمام هو إجراءات أفضل للتحكم - بالعدوى في المستشفى.

### الإشريكية القولونية المُعرّضة

عداوى الجهاز البولي المكتسبة - من المجتمع عادة تسببها الإشريكية القولونية المُعرّضة البولية (uropathogenic *E.coli*)، والتي تنتقل من استعمار ظهاريات الجهاز الهضمي (GI epithelia) إلى القناة البولية مع إظهار جزئيات الالتصاق بالسطح (انظر الفصل التاسع) الضرورية للالتصاق إلى الظهاريات البولية (uroepithelium). والاستعمال واسع النطاق لتوليفة ترايميثوبريم - سلفاميثوكسازول في الولايات المتحدة ربما تكون قد أحدثت مستويات مسببة للمشكلات من المقاومة السرية (ماجنييس وآخرون 2001، Magnes *et al.*، ستام 2001، Stamm)، مع تناسب في الكائنات التي تصل مقاومتها ٢٠٪. وقد أنذر بذلك بواسطة ٣٠٪ إلى ٥٠٪ مقاومة في أجزاء من أوروبا، إسرائيل، وبنغلاديش (ستام 2001، Stamm)، نشأت الفاشيات في النساء في كاليفورنيا، ميشيغان، ومينيسوتا من نسيلة (clone) واحدة (ماجنييس وآخرون 2001، Manges *et al.*)، مما يدل على الانتشار الواسع النطاق للسلسلة الفوعة، ربما خلال مصادر الغذاء الملوثة. والاختيار للمعالجة التالية لعداوى الإشريكية القولونية المُعرّضة البولية والتي تعد كذلك مقاومة للبتيسيلينات والكيفالوسبورينات الفموي إضافة إلى تتراسيكلين، الذي منح عن طريق بلازميد واحد (ساهم وآخرون 2001، Sahm *et al.*، ستام 2001، Stamm)، وتبقى فلوروكوينولونات، ولكن ربما سوف يتغذى بواسطة التقارير عن سلاسل الإشريكية القولونية المقاومة - للفلوروكوينولونات في عداوى الجهاز البولي.

ويحتمل بأن عناصر متعددة تكون متورطة في هذه المقاومة، وتشمل الاستعمال الواسع النطاق لتوليفة - الدوائين لعدد من السنين واستعمالها الحديث كعامل توكية لالتهاب الرئة المستحث بالكتيبة الرئوية الجوجوية (*Pneumocystis carinii*) في المرضى منقوصي المناعة. استعمال ترايميثوبريم - سلفاميثوكسازول في غذاء الحيوانات يبدو من المحتمل كذلك بأنه قد أنشأ مستودعات مقاومة - الدواء المُعرّضة من الإشريكية القولونية في الحيوانات. لقد تم التحقق من بقاء محددات مقاومة الدواء في سياق سلفوناميد - ترايميثوبريم في المملكة المتحدة حيث وضعت تقيدت على التوليفة في ١٩٩٥م وتلاها التحول إلى ترايميثوبريم وحده. وانخفضت الصفات من ٣٢٠,٠٠٠ في السنة إلى ٧٧,٠٠٠ في السنة بين ١٩٩١م (إيني وآخرون 2001، Enne *et al.*) وفي ١٩٩٩م كان معدل انتشار مقاومة السلفوناميس في العزلات السرية في الممارسة العامة في المملكة المتحدة نحو ٤٦٪، مقارنة

بـ ٤٠٪ في ١٩٩١م، مع اكتساب جينات لدائي هيدروبيروتيت سينثيلاز غير الحساس - للدواء (drug-insensitive dihydropteroate synthase) (الفصل السادس)، على العناصر المتقلة كسبب. إنه ليس من الواضح بعد ما إذا كان وقت إضافي سوف يؤدي إلى النقص شيوع المقاومة أو ما إذا كان الانتشار الواسع النطاق للمقاومة في العديد من السياقات الوراثية للإشريكية القولونية سوف يجعل من الصعب استبدال المحددات. إيني وآخرون 2001، Enne *et al.*، لاحظوا استمرار بيع ٨٠ طن في السنة من سلفوناميد تراييميثوبريم في إذا الحيوانات للعام ١٩٩٨م كخزان لصيانة السلالات المقاومة.

هذا يتناقض مع انخفاض مقاومة الإريثروميسين في المكورة العقدية القيحية (*Streptococcus pyogenes*) في فنلندا (سيبالا وآخرون 1997، Seppala *et al.*)، ولكن في الآونة الأخيرة كانت تلك النسلات (clones) قد تطوّرت من المكورة العقدية القيحية، وليست متعددة المقاومة - للدواء، وربما لم يكن لديها الوقت الكافي لتصبح بالكامل الأمثل للبقاء على قيد الحياة.

#### السالمونيلا الضرب المصلي تيفيمورم DT104 (Salmonell serovar Typhimurium DT104)

لقد انتشرت سالمونيلا الضرب المصلي تيفيمورم DT104 بشكل كبير كمُعرض متعدد المقاومة - للدواء في المرضى في أوروبا الغربية وأمريكا الشمالية (ثريلفول 2000، Threlfall). وهذه السلالة قد اكتشفت لأول مرة في النوارس في الثمانينات، وأصبحت واسعة التوزيع في المواشي في المملكة المتحدة في أوائل التسعينات، وانتشرت في البشر من خلال السلسلة الغذائية. وقد تورطت في العدوى البشرية في جميع أنحاء الإتحاد الأوروبي، كندا، والولايات المتحدة. وهذا المرض عادة مقاومة للأميسيلين، كلورامفينيكول، سترپتوميسين، سلفوناميدات وتتراسيكلين، عن طريق كاسيت الجين الذي يحتوي على الجينات التي ترمز ANT(3'')-1a aminoglycoside nucleotidyltransferase وال CARB-2(PSE-1) بيتا-لاكتاماز الذي يحيط بالجينات - المقاومة لكلورامفينيكول أسيثيل ترانسفيراز وتتراسيكلين (بريجز وفراتاميكو 1999، Briggs and Fratamico). وأفاد بالعزلات ذات المقاومة الإضافية لتراييميثوبريم (الطفرة لثنائي هيدروفوليت ريدكتاز المقاومة - للدواء) وسبروفوكساسين (طفرات Asp87 في الوحدة الفرعية GyrB) للسلالات DT104 (انظر ثريلفول 2000، Threlfall) (الشكل ١٧.١)، مما يجعل هذه السلالات مشكلة بشكل خاص مع كامل ترسانتها المقاومة للمضاد الحيوي. ولم يستجب أربعة من ١١ مريضاً متومين يمثل هذه العدوى في الدماغ في ١٩٩٨م للسبروفوكساسين، مع وفيتان (مولباك وآخرون 1999، Molbak *et al.*). وهذه الحالة تعدّ رمزاً لمقاومة الدواء في المُعرضات الحيوانية المنشأ، حيث استخدام الأدوية المضادة البكتيرية في الماشية وعلف (غذاء) الحيوانات يضمن العمر القصير لاستعمال المضاد الحيوي في البشر. ولقد لاحظ ثريلفول 2000، Threlfall، بأن اكتساب المقاومة للسبروفوكساسين في عدوى الضرب المصلي تيفيمورم DT104 في البشر في المملكة المتحدة تبع الترخيص لنظير

سبروفلوكساسين، إنتيروفلوكساسين (enterofloxacin)، للاستخدام البيطري في أواخر ١٩٩٣م، حيث اكتسب استعمال واسع معاجل توكية بيطري. وقد أشار بأن إنتيروفلوكساسين قد ووفق عليه بواسطة إدارة الغذاء والدواء في الولايات المتحدة للاستخدام في الحنازير والماشية. وهذا ربما يُنذر بانتشار المقاومة للفلوروكيونولون لهذا المُمرض في البشر في الولايات المتحدة ودعا علناً ويكل قوة من اجل نهج مختلف لكل من المسح والترخيص لمناظرات للفئات المتقدمة للحياة من المضادات الحيوية للبشر. وقد تم تحديد التسلسل الجيني لاثنين الضرب المصلي لسالونيلا إنتيريكا: للضرب المصلي تيفيموريم LT2 (مك ليلاند وآخرون 2001, McLelland *et al.*) وللضرب المصلي تيفيموريم CT18 (بارخيل وآخرون 2001, Parkhill *et al.*)، تسبب السابقة التهاب المعدة والأمعاء (gastroenteritis)، والأخيرة تسبب حمى التيفويد (typhoid fever).

أيميسين	ترايثيريم
كلورامفينيكول	تتراسيكلين
سيفترياميسين	كلالاميسين
سلفوناميد	سبروفلوكساسين

الشكل (١، ١٧). الأنماط الظاهرية للمقاومة - المتعددة للمضادات الحيوية لسالونيلا إنتيريكا الضرب المصلي تيفيموريم DT104.

#### العواقب الطبية لاستخدام المضادات الحيوية في الزراعة

بينما تعدّ المستشفيات بوضوح ميادين خصبة لانتقاء البكتيريا الممرضة المقاومة - للمضادات الحيوية، المبدان التكميلي الذي قد فهم على مدى عقود هو استخدام المضادات الحيوية في الغذاء الحيواني لتعزيز النمو والوقاية من الأمراض المعدية (انظر ويتي 1998, Witte). وانتشار الجينات المقاومة على الترانسبوزونات والبلازميدات (دبفيس وليديربيرج 2000, Davis and Lederberg، ليفي ١٩٩٨) يعني أن علف الحيوانات هو مستودعات مهمة لنقل المُمرضات الحيوانية المنشأ على النحو المفصل أعلاه لانتشار السالونيلا المتعددة - المقاومة الضرب المصلي تيفيموريم DT104 في منتجات اللحوم وسلالات الإشريكية القولونية المقاومة - لسلفوناميد - ترايثيريم. ثلاثة أمثلة أخرى تعمل على تعميم النقطة. ويتناول الأول نظير مضاد غليكوبيبتيد الحيوي فانكوميسين، أفوبارسين (avoparcin)، الذي يستعمل بشكل واسع في الأعلاف الحيوانية. في ١٩٩٤م، يقدر بنحو ١,٠٠٠ من أفوبارسين (٢٤,٠٠٠ كجم) الذي استخدم في الدنمارك كوسيط زراعي كفانكوميسين (٢٤كجم) في المعالجات في الإنسان. النوع نفسه من الخمس-جينات vanRSHAX (الفصل العاشر) المقاومة لأفوبارسين تحدث في الحيوانات ويمكن أنت تنتقل عن طريق الحيوانات. وفي أستراليا في ١٩٩٢ إلى ١٩٩٦م كان هناك ١,٠٠٠ أضعاف مماثلة لزيادة استعمال أفوبارسين في مزارع



الحيوانات مقارنة باستعمال فانكوميسين لأمراض البشر (ويتتي Witte, 1998). وتبدو هذه سياسة محفوفة بالمخاطر للغاية والتي تتضمن عملياً انتقاء والمحافظة على المقاومة ولاسيما إلى صنف تبغي من المضادّات الحيوية المنقذة للحياة. وفي الواقع، الاتحاد الأوروبي ماضي في حظر استخدام أفوبارسين في علف الحيوانات.

وبالنسبة للعداوى الميكروبية البرازية المهددة - للحياة التي هي بذلك مقاومة للفانكوميسين، توليفة بريستيناميسين (الفصل الرابع) فقد تمت مؤخراً الموافقة عليها. وهذه هي أعضاء من عائلة سترتوجرامين، وظهرت المقاومة على الفور في بعض المرضى في ألمانيا (انظر ويتتي Witte, 1998)، مما يعكس على الأرجح وجود مخزن مهم للجينات المقاومة في الحيوانات؛ بسبب ٢٠ سنة من الاستخدام المسبق من سترتوجرامين فيرجينياميسين ذا العلاقة (الفصل الحادي عشر) في الأعلاف الحيوانية. استخدام الأصناف المهمة من المضادّات الحيوية البشرية، أو المضادّات الحيوية البشرية المحتملة، في الأعلاف الحيوانية يمكن أن يضع قيوداً شديدة على حياتها العمرية اللاحقة وفائدة هذا الصنف في المعالجات في الإنسان. كما أنها تؤثر سلباً على المستقبل.

المثال الثالث ينشأ من استعمال فلوروكوينولون في التوقية ضد المرض العدواني (١٢٠ طناً في الحمولات، ٨٠٠ طن في الإنسان سنوياً) في صناعة الدواجن (فالكو وكينيدي Falkow and Kennedy, 2001، جونت ويدوك Gaunt and Piddock, 1996)، التي إنتقت السلالات المقاومة - لفلوروكوينولون من العظيمة الصائمية (*Campylobacter jejuni*). الانتقالات من الحيوانات هي المصدر المشتبه للمرض الإسهالي في الإنسان الذي سببته العظيمة الصائمية (٢٤ مليون حالة في الولايات المتحدة سنوياً) (إنجبرج وآخرون Engberg et al., 2001)، موازياً مرض السالمونيلا المقاومة - لفلوروكوينولون. وقبل استعمال كوينولونات في مزارع الدواجن، مثل هذه العظيمة المقاومة - للدواء لم تكن تشاهد في الإنسان بدون التعرض المسبق للفلوروكوينولون (جونت ويدوك Gaunt and Piddock, 1996، ويتتي Witte, 1998). ولكن من ١٩٩١ إلى ١٩٩٨م ارتفعت مقاومة سبروفلوكساسين في العظيمة من ٠ إلى ١٣,٦٪ (كوهين Cohen, 2000).

وهذه ليست بالضبط مشكلة جديدة. فقد أوصت لجنة سوان (Swann Committee) في المملكة المتحدة في ١٩٦٩م بوضوح بأن المضادّات الحيوية التي تستخدم في معالجة الإنسان لا يمكن استخدامها كمسرّعات للنمو في الحيوانات. وهذه التوصيات تشمل أصناف الأدوية، وليس فقط الجزيئات المحددة، ولأفغرات أفوبارسين/فانكوميسين يحصل لها إعادة مستمرة للصياغة. ورشة عمل منظمة الصحة العالمية بعد ٢٨ عاماً اللاحقة في ١٩٩٧م كررت هذه التوصيات بالقوة (انظر ويتتي Witte, 1998). والاستنتاجات لم تكن جديدة، ولكن ثلاثة عقود من الضرر تلت. ولم يحسم الوضع بعد في العالم المتقدم، ويتبين ذلك من موافقة إدارة الغذاء والدواء لاستخدام إنتيروفلوكساسين (enterofloxacin) في علف الحيوانات، كما ذكر سابقاً. وبالفعل، فالتين من التقارير قد ظهرت مؤخراً في الولايات

المتحدة عن السالمونيلا والمكورات البرازية المقاومة للمضاد الحيوي التي نقلتها - للأغذية (مالك دونالد وآخرون McDonald *et al.*, 2001، وايت وآخرون White *et al.*, 2001)، جنباً إلى جنب مع الافتتاحية الأذعة لرئيس تحرير مجلة نيو إنجلاند للطب (*the New England Journal OF medicine*) (جورباتش 2001 Gorbach) بعنوان "استخدام مضادات المكروبات في العلف الحيواني - حان الوقت للتوقف" "Antimicrobial Use in Animal Feed-Time to Stop".

وبما أن المقاومة للمضادات الحيوية تبدو بوضوح مشكلة عالمية، وعدم وجود سياسات في العالم النامي، الذي يعدّ مسئول عن ٢٥٪ من إنتاج اللحوم في العالم، هو واقعاً إشكالية. السياسة لتجنب أي جرعات تحت العلاجية (subtherapeutic doses) من العوامل المضادة للمكروبات (والتخلي عن ٤٪ إلى ٥٪ من التحسن في وزن الجسم التي يوفرها الدواء) يبدو أنه الطريق الأكثر حكمة وعقلانية لضمان أن يكون هناك مضادات حيوية باقية للعدوى البكتيرية المهددة - للحياة في الإنسان (مثال، انظر فالكو وكينيدي 2001 Falkow and Kennedy). وأخيراً، تلهب المشكلة أدنى من تربية الحيوانات، بل هي أيضاً في ممارسة الزراعة والبستنة حيث كميات كبيرة من المضادات الحيوية البشرية، وإن كانت قديمة، يتم رشها في البيئة. ففي الولايات المتحدة في ١٩٩٦م، تم رش ٣٠٠.٠٠٠ طن من سترتوميسين وأوكسيتترايسكلين على التفاح والكمثرى كتوقية ضد العدوى (ورشة عمل NAS عن الأمراض المعدية الناشئة) (NAS workshop on Emerging Infectious Diseases) (ديفيس وليديربيرج 2000 Davis and Lederberg).

### الكيفالوسبورينات : النجاح الواسع النطاق يؤدي إلى فرط نمو الكائنات المقاومة المحتملة المُمرضة

من المتفق عليه أن استخدام المضاد الحيوي سوف يولد المقاومة في جهمرة البكتيريا، كما درس على نحو متسع خلال هذا الكتاب. الاستعمال الواسع النطاق للكيفالوسبورينات، كالأكثر صفاءً، أماناً، وكمضادات حيوية واسعة - المدى، ربما وبشكل متناقض قد ساهمت ليس فقط ظهور الكائنات المقاومة-ليبتاكتام ولكن أيضاً في انتقاء، تكاثر، وفرط النمو للعديد من المكروبات المشكلة (دانسر 2001 Dancer). تنتهي المعالجة بالكيفالوسبورين فرط النمو لكلا المكروبات المطاعمة مثل المكورات العنقودية السالبة - لكوأجيوليز، الزائفة الزنجارية، ومختلف المكورات المعوية فضلاً عن المُمرضات الأكثر عدوانية، مثل المطية العسيرة (*Clostridium difficile*)، MRSA، المكورات العقدية المقاومة - للبنيسلين، والأشكال المتعددة - المقاومة من الإشريكية القولونية والسالمونيلا.

في المستشفيات حيث الكيفالوسبورينات تعدّ الأدوية الرئيسة التي تعطى للتوقية المضادة للبكتيريا قبل الجراحة، قد يكتسب المرضى المكورات العنقودية السالبة - لكوأجيوليز (دانسر 2001 Dancer) خلال ساعات من الدخول. وهذه البكتيريا المقاومة - للمثيلين تتكاثر على وفي داخل المرضى الذين يتلقون علاجاً بالكيفالوسبورينات

وهي عداوى سائدة في المرضى بالقناطر والبدلات الاصطناعية. وتناظرياً، فاستعمال الكيفالوسبورينات في المستشفى يصاحبه فرط نمو وانتعاش الزائفة الرنجارية، مع انخفاض الحساسية الفطري للبيتا لكتامات. وبإمكانهم أن يتطغروا في وجه المعالجة المستمرة لمقاومة الالتهام. وذكرنا في الفصل السابع بأن فرط نمو المكورات البرازية يصاحب استخدام الكيفالوسبورين؛ لأنهم يستعمرون مواضع القناة الهضمية التي كانت مأهولة بسكان البكتيريا الحساسة - للدواء، والآن أُبديت بواسطة المضادات الحيوية. وتنطبق الحجة نفسها على المطثية العسيرة، العامل المسبب للإسهال المصاحب - للمضاد الحيوي، بوصف البكتيريا تستولي على المحارِبِ المختلفة مسبقاً بواسطة الكائنات الحساسة - للدواء. ولاحظ (دانسر 2001، Dancer) بأن فرط نمو المطثية العسيرة قد أدى إلى فرض القيود على استعمال الكيفالوسبورينات في بعض السكان المسنين وهذا الاستخدام الواسع النطاق للكيفالوسبورينات في الثمانينات قد لعب دوراً مهماً في نشوء وانتشار MRSA في مستشفيات لندن وفي طوكيو إضافة إلى انتقاء سلالات الإشريكية القولونية وإنتيروباكتري كلواكي (*Enterobacter cloacae*) مع عديد من المتغيرات الطفرية من بيتا لكتامازات المُرمَّزة - بالبلازميد. وإختتم بالملاحظة: "يبدو أنه غير المرجح، بأننا سوف نشهد الزيادة الغزيرة للكائنات المتعددة - المقاومة إذا لم تكن الكيفالوسبورينات قد قُدمت. وذلك لأن القليل من العوامل القائمة قلعت مثل النشاط الواسع - المدى، ومثل السُمِّية المنخفضة، وبذلك لم تكن مقررّة عالمياً. ومجموعة أكبر من المضادات الحيوية قد استخدمت، وتشر الانتقاء المحتمل".

هذه ليست سوى خصائص كان المرء أراها من البداية لمضادات حيوية جديدة ويثير الجدل الواضح بأن الآن وفي المستقبل، حتى مع وجود المضادات الحيوية الأكثر واعدة، الاستخدام المنخفض للمضادات الحيوية، القسري خلال تثقيف الأطباء والمرضى، وبصرامة يتبع المبادئ التوجيهية الممارسة ولن يعزز فقط الحياة المفيدة للمضاد الحيوي المحدد ولكن أيضاً الانخفاض في معدلات فرط نمو المكروبات ذات القدرات الطبيعية والمكتسبة للمقاومة. وكلما زاد تواتر السلالات المقاومة - للمضاد الحيوي، الأبطأ سيكون إعادة إنشاء السلالات الحساسة كنيبت غالب على انسحاب المضاد الحيوي (ليفي 2001، Levy).

### الإستراتيجيات للتحكم في مقاومة الدواء المضاد للمكروبات

على مدى السنوات القليلة الماضية كانت هناك زيادة في فهم الحاجة لوضع سياسات المضادات الحيوية المنقحة للتحكم في مقاومة المضاد الحيوي (جولد 1999، Gould، كونين 1997، Kunin، ليفي 1992، Levy، مكجوان وتينوفر 1997، McGowan and Tenover، شليز وآخرون 1997b، 1997a، Shlaes et al.). وقد تضمن هذا كل من النهج السريرية والوبائية لتقييم الطرق الرئيسة وأسباب ظهور وانتشار مقاومة المضادات الميكروبية في كائنات المستشفى وفي مجالات المجتمع، مع التقدير للديناميكيات المجتمع (شليز وآخرون 1997a، Shlaes et al.) التي تجادل للمبادئ الأربعة من الجدول (١٧،٣).

توصيات الاستعمال الأمثل تحتاج إلى دمج جميع الملاحظات الواردة في هذا الفصل وربما تشير نحو الأدوية الضيقة - المدى بدلاً من الواسعة - المدى لمعالجة العدوى البكتيرية. وللقيام بذلك بشكل فعال سوف يتطلب الانتقال من المعالجة التجريبية (empiric therapy) الحالي حيث العوامل المسببة غير المعروفة حتى يوم أو يومين بعد بدء العلاج. وفي المستقبل القريب سوف يوفر اختبار تفاعل سلسلة حافز البلمرة - الوقت الحقيقي المتعدد (multiplexed real-time PCR analysis) التشخيص النهائي للبكتيريا الممرضة وجدها من الجينات المقاومة المعروفة وتوفر خياراً أمثل للمضادات الحيوية الضيقة - المدى مع التقليل من خطر حث المقاومة في التثبيت البكتيري للمريض.

الجدول (١٧،٣). التوجهات لتعديل العمر المثلد للأدوية المضادة للبكتيرية.

١ - الاستعمال الأمثل لجميع الأدوية المضادة للبكتيرية.
٢ - التخلص الانتقائي، التحكم، أو تقييد أصناف من العوامل المضادة للبكتيرية.
٣ - استعمال الأدوية المضادة للبكتيرية في أنماط التناوب أو التدوير.
٤ - استعمال المعالجة المضادة للبكتيرية التوليفية لإبطاء ظهور المقاومة.

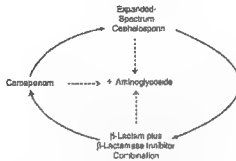
بالإذن من (شليز وأخرون 1997a, Shlimes et al.).

التخلص الانتقائي وتوصية التحكم تتطلب بأن يغير المرضى والأطباء أنماط الوصفة الطبية والتوقعات نحو التوازن الأكثر فعالية بين حاجة المريض الفردية مع متطلبات الصحة العامة التي تنشأ من عبء المضادات الحيوية في البيئة. مرة أخرى، وهذا سيتعين بأن يقترن أفضل كثير مع التشخيص في الوقت الحقيقي للممرض لتوجيه إستراتيجيات المعالجة، بما في ذلك المسببات الفيروسية مقابل البكتيرية في عدوى الجهاز التنفسي.

التوصية لتدوير المضادات الحيوية، وبالتحديد في أوضاع المستشفى، هو جزء من إستراتيجية التحكم بالعدوى ومسح الممرض. لخص جولد (Gould, 1999) الخطة لتدوير المضاد الحيوي في وحدات الإنتان (sepsis) (الشكل ١٧،٢). خط العلاج الأول سوف يبدأ بواحد من ثنائيات بيتا لكتام الثلاثة الرئيسية، على سبيل المثال، بيتا لكتام زائد مشبط لاكتاميز (مثال، توليفة الأموكسيسيلين - كلافلونيت). وبعد شهرين من شأن الوحدة التدوير إلى مضادات كارباينيم الحيوية كعلاج خط أمامي. وعند نهاية الشهرين القادمين، الجيل الثالث - أو الرابع (الممتد - المدى أو أعلى) من الكيفالوسبورين سوف يصبح اختيار الخط - الأمامي. وبعد ذلك، بالإمكان العودة لاختيار الدورة التوليفية الأولية، مكملاً اجتياز الثلاثة - أدوية في فترة ٦ - أشهر.

وتوصية العلاج - التوليفي، حيث يستعمل اثنان من الأدوية في نفس الوقت للتقليل من احتمالية الطفرة للمقاومة الهامة سريراً، وتتمثل في الخطة المشار إليها أعلاه بواسطة توليفة أموكسيسيلين - كلافلونيت. وهي في الممارسة في توليفة سلفوناميد - تريميثوبريم وفي زوج سينيرسيد من البريستيناميسينات الذي أدخل مؤخراً. النماذج

التي تقم بروتوكولات العلاج لمنع مقاومة المضاد الحيوي (بونهويفير وآخرون 1997 Bonhoeffer *et al.*) تدعم العلاج التوليفي (combination therapy) كإستراتيجية المعالجة المثلى. وهو المعيار في معالجة الدرن في جميع أنحاء العالم. وقد جادل درليكا (Drica, 2001) بأن جرعات المضادات الحيوية يجب أن تكون عالية بما يكفي لوقف الإغناء الانتقائي للطفرة المقاومة. على الرغم من أن طفرات المقاومة سوف تُولد إذا كان بالإمكان الاحتفاظ بها ككسر ضئيل من السكان (جمهرة البكتيريا) بواسطة جعل التراكيز العلاجية أعلى من نافذة انتقاء الطفرة، وبعد ذلك سيتم عرقلة طفرة التوسع السكاني.



الشكل (١٧،٢). مقترح لتدوير المضاد الحيوي لمعالجة الإثنان البكتيري في المستشفيات (بالأذن من جولد 1999, Gould).

إن تطبيق تدابير التحكم الناجحة هو في نهاية المطاف وطني وعالمي. وتحتاج البلدان إلى تطبيق توصيات منظمة الصحة العالمية ومراكز التحكم والوقاية من الأمراض (Centers for Disease Control and Prevention) من أجل نظام المسح الدولي (ويليامز وهيمان 1998 Williams and Heymann) لسلاسل البكتيريا المقاومة لاتخاذ قرارات عقلانية عن ما يستخدم من المضادات الحيوية. وتشمل هذه (١) تعزيز المسح والاستجابة للمُمرضات الجديدة، (٢) المزيد من البحوث التطبيقية، (٣) تقوية البنية التحتية للصحة العامة، و(٤) توفير التدريب لتطوير، تطبيق، وتقييم الإستراتيجيات للوقاية والتحكم.

وفي الختام، فزيادة المعرفة الجزئية حول الجينات البكتيرية الأساسية والقدرة على فحص هذه الأهداف المُتَبَتّة مع مكتبات من المنتجات الاصطناعية الجديدة والطبيعية من المرجح أن يصل إلى مضادات حيوية جديدة ضد الأهداف البكتيرية غير التقليدية. ولكن جزيئات المضادات الحيوية الجديدة بحد ذاتها سوف لن تُغير حركات الدورات لتطوير المقاومة. وفي الواقع، الاستعمال الواسع والعشوائي للمضادات الحيوية الجديدة يستطيع بالفعل تقصير زمن الدورة ويدفع لنشوء الأمراض البكتيرية الأكثر شراسة وفتكاً ما لم تحدث التغييرات السلوكية الموضحة في الجدول (١٧،٣) وينتج عنها التقدير اللائق للمضادات الحيوية كموارد محدودة.



## المراجع

- Achari , A., D. O. Somers, J. N. Champness, P. K. Bryant, J. Rosemond, and D. K. Stammers. 1997. Crystal structure of the anti-bacterial sulfonamide drug target dihydropteroate synthase . *Nat. Struct. Biol.* 4:490-497.
- Admiral, S. J., C. T. Walsh, and C. Khosla. 2001. The loading module of rifamycin synthetase is an adenylation-thiolation didomain with substrate tolerance for substituted benzoates. *Biochemistry* 40:6116-6123.
- Allen, N. E. 1985. Non classical targets for antibacterial agents. *Annu. Rep. Med. Chem.* 20:155-162.
- Amyes, S. G. B. 2001. *Magic Bullets, Lost Horizons: the Rise and Fall of Antibiotics*. Taylor and Francis, New York, N.Y.
- Anborgh, P. H., and A. Parmeggiani. 1991. New antibiotic that acts specifically on the GTP-bound form of elongation factor Tu. *EMBO J.* 10:779-784.
- Andres, C. J., J. J. Bronson, S. V. D'Andrea, M. S. Deshpande, P. J. Falk, K. A. Grant – Young, W. E. Harte, H. T. Ho, P. F. Misco, J. G. Robertson, D. Stock, Y. Sun, and A. W. Walsh. 2000. 4-Thiozolidinones: novel inhibitors of the bacterial enzyme MurB. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 10:715-717.
- Anonymous. 1999. The choice of antibacterial drugs. *Med. Lett.* 41:95-104.
- Anonymous. 2001. The choice of antibacterial drugs. *Med. Lett.* 43:69-78.
- Apfel, C. M., H. Locher, S. Evers, B. Takacs, C. Hubschwerlen, W. Pirson, M. G. Page, and W. Keck. 2001. Peptide deformylase as an antibacterial drug target: target validation and resistance development. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45:1058-1064.
- Araoz, R., E. Anhalt, L. Rene, M. A. Badet-Denisot, P. Courvalin, and B. Badet. 2000. Mechanism-based inactivation of VanX, a D-alanyl-D-alanine dipeptidase necessary for vancomycin resistance. *Biochemistry* 39:15971-15979.
- Arthur, M., and P. Courvalin. 1993. Genetics and mechanism of glycopeptides resistance in enterococci. *Antimicrob. Agents Chemother.* 37:1563-1571.
- Arya, P., D. T. H. Chou, and M. G. Baek. 2001. Diversity-based organic synthesis in the era of genomics and proteomics. *Angew. Chem. Int. Ed.* 40:339-346.
- Arya, P., R. Joseph, and D. T. Chou. 2002. Toward high-throughput synthesis of complex natural product-like compound in the genomic and proteomics age. *Chem. Biol.* 9:145-156.
- Asahi, Y., Y. Takeuchi, and K. Ubukata. 1999. Diversity of substitutions within

- Or adjacent to conserved amino acid motifs of penicillin-binding protein 2X in Cephalosporin-resistant *Streptococcus pneumonia* isolates. *Antimicrob. Agents Chemother.* **43**:1252-1255.
- Bachmann, B. O., R. Li, and C. A. Townsend. 1998.  $\beta$ -lactam synthetase: a new biosynthetic enzyme. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **95**:9082-9086.
- Baizman, E. R., A. A. Branstrom, C. B. Longley, N. Allanson, M. J. Sofia, D. Gange, and R. C. Goldman. 2000. Antibacterial activity of synthetic analogues based on the disaccharide structure of moenomycin, an inhibitor of bacterial transglycosylase. *Microbiology* **146**(Pt. 12):3129-3140.
- Baltz, R. H. 1997. Lipopeptide antibiotics produced by *Streptomyces roseosporus* and *Streptomyces fradiae*, p. 415-430. In W. R. Strohl (ed.), *Biotechnology of Antibiotics*, 2<sup>nd</sup> ed. Marcel Dekker Inc., New York, N.Y.
- Ban, C., and W. Yang. 1998. Crystal structure and ATPase activity of MutL: implication for DNA repair and mutagenesis. *Cell* **95**:541-552.
- Ban, N., P. Nissen, J. Hansen, P. B. Moore, and T. A. Steitz. 2000. The complete atomic structure of the large ribosomal subunit at 2.4 Å resolution. *Science* **289**:900-910.
- Barrett, J. F., and J. A. Hoch. 1998. Two-component signal transduction as a target for microbial anti-infective therapy. *Antimicrob. Agents Chemother.* **42**:1529-1536.
- Barrier, J. C., N. Berthaud, D. Beyer, S. Dutka-Malen, J. M. Paris, and J. F. Desnottes. 1998. Recent developments in streptogramin research. *Curr. Pharm. Des.* **4**:155-180.
- Barton, D., Sir K. Nakanishi, O. Meth-Cohn, and U. Sankawa. 1999. *Comprehensive Natural Products Chemistry*. Pergamon, New York, N.Y.
- Bayles, K. W. 2000. The bactericidal action of penicillin: new clues to an unsolved mystery. *Trends Microbiol.* **8**:274-278.
- Beadle, B. M., I. Trehan, P. J. Focia, and B. K. Shoichet. 2002. Structural milestones in the reaction pathway of an amide hydrolase: substrate, acyl, and product complexes of cephalothin with AmpC beta-lactamase. *Structure* (Cambridge) **10**:413-424.
- Belova, L. T., T. Tenson, L. Xiong, P. M. McNicholas, and A. S. Mankin. 2001. A novel site of antibiotic action in the ribosome: interaction of everminomycin with the large ribosomal subunit. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **98**:3726-3731.
- Benson, T. E., D. J. Filman, C. T. Walsh, and J. M. Hogle. 1995. An enzyme-substrate complex involved in bacterial cell wall biosynthesis. *Nat. Struct. Biol.* **2**:644-653.
- Benson, T. E., J. L. Marquardt, A. C. Marquardt, F. A. Etzkorn, and C. T. Walsh. 1993. overexpression, purification, and mechanistic study of UDP-N-acetylenolpyruvylglucosamine reductase. *Biochemistry* **32**:2024-2030.
- Bentley, S. D., K. F. Chater, A. M. Cerdeno-Tarraga, G. L. Challis, N. R. Thomson, K. D. James, D. E. Harris, M. A. Quail, H. Kieser, D. Harper, A. Bateman, S. Brown, G. Chandra, C. W. Chen, M. Collins, A. Cronin, A. Fraser, A. Goble, J. Hidalgo, T. Hornsby, S. Howarth, C. H. Huang, T. Kieser, L. Larke, L. Murphy, K. Oliver, S. O'Neil, E. Rabinowitsch, M. A. Rajandream, K. Rutherford, S. Rutter, K. Seeger, D. Saunders, S. Sharp, R. Squares, S. Squares, K. Taylor, T. Warren, A. Wietzorrek, J. Woodward, B. G. Barrell, J. Parkhill, and D. A. Hopwood. 2002. Complete genome sequence of the model actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3 (2). *Nature* **417**:141-147.
- Berger, J. M., S. J. Gamblin, S. C. Harrison, and J. C. Wang. 1996. Structure and



- mechanism of DNA topoisomerase II. *Nature* **379**:225-232.
- Berger-Bachi, B., and M. Tschierske.** 1998. Role of Fem factors in methicillin resistance. *Drug Resist. Update* **2**:310-324.
- Bernat, B. A., L. T. Laughlin, and R. N. Armstrong.** 1997. Fosfomycin resistance protein (FosA) is a manganese metalloglutathione transferase related to glyoxalase I and the extradiol dioxygenases. *Biochemistry* **36**:3050-3055.
- Besra, G. S., K. H. Khoo, M. R. McNeil, A. Dell, H. R. Morris, and P. J. Brennan.** 1995. A new interpretation of the structure of the mycolyl-arabinogalactan complex of *Mycobacterium tuberculosis* as revealed through characterization of oligoglycosylalditol fragments by fast-atom bombardment mass spectrometry and <sup>1</sup>H nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Biochemistry* **34**:4257-4266.
- Bibb, M.** 1996. 1995 Colworth Prize Lecture. The regulation of antibiotic production in *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Microbiology* **142**: (Pt. 6): 1335-1344.
- Bibb, M. J., V. Molle, and M. J. Buttner.** 2000. Sigma (BldN), an extracytoplasmic function RNA polymerase Sigma factor required for aerial mycelium formation in *Streptomyces coelicolor* A3(2). *J. Bacteriol.* **182**:4606-4616.
- Bischoff, D., S. Pelzer, A. Holtzel, G. J. Nicholson, S. Stockert, W. Wohlleben, G. Jung, and R. D. Sussmuth.** 2001. The biosynthesis of vancomycin-type glycopeptide antibiotics – new insights into the cyclization steps. *Angew. Chem. Int. Ed.* **40**:1693-1696.
- Bonhoeffer, S., M. Lipsitch, and B. R. Levin.** 1997. Evaluating treatment protocols to prevent antibiotic resistance. *Proc. Natl. acad. Sci. USA* **94**:12106-12111.
- Borges-Walmsley, M. I., and A. R. Walmsley.** 2001. The structure and function of drug pumps. *Trends Microbiol.* **9**:71-79.
- Borisova, S. A., L. Zhao, D. H. Sherman, and H. W. Liu.** 1999. Biosynthesis of desosamine: construction of a new macrolide carrying a genetically designed sugar moiety. *Org. Lett.* **1**:133-136.
- Born, T. L., and J. S. Blanchard.** 1999. Structure/ function studies on enzymes in the diaminopimelate pathway of bacterial cell wall biosynthesis. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **3**:607-613.
- Bozdogan, B., and R. Leclercq.** 1999. Effects of genes encoding resistance to streptogramins A and B on the activity of quinupristin-dalfopristin against *Enterococcus faecium*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **43**:2720-2725.
- Braun, V., and K. Hantke.** 1974. Biochemistry of bacterial cell envelopes. *Annu. Rev. Biochem.* **43**:89-121.
- Breukink, E., I. Wiedemann, C. van Kraaij, O. P. Kuipers, H. Sahl, and B. de Kruijff.** 1999. Use of the cell wall precursor lipid II by a pore-forming peptide antibiotic. *Science* **286**:2361-2364.
- Briggs, C. E., and P. M. Fratamico.** 1999. Molecular characterization of an antibiotic Resistance gene cluster of *Salmonella typhimurium* DT104. *Antimicrob. Agents Chemother.* **43**:846-849.
- Brock, T. D., M. T. Madigan, J. M. Martinko, and J. Parker.** 1994. *Biology of Microorganisms*, 7<sup>th</sup> ed. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, N. J.
- Brodersen, D. E., W. M. Clemmons, A. P. Carter, R. J. Morgan-Warren, B. T. Wimberly, and V. Ramakrishnan.** 2000. The structural basis for the action of the antibiotics tetracycline, pactamycin, and hygromycin B on the 30S ribosomal subunit.

*Cell* **103**:1143-1154.

**Bronson, J. J., and J. F. Barrett.** 2001a. recent developments in antibacterial research. *Annu. Rep. med. Chem.* **36**:89-98.

**Bronson, J. J., and J. F. Barrett.** 2001b. Quinolone, everninomycin, glycylcline, carbapenem, lipopeptide and cephem antibacterials in clinical development. *Curr. Med. Chem.* **8**:1775-1793.

**Brotz, H., G. Bierbaum, K. Leopold, P. E. Reynolds, and H. G. Sahl.** 1998. The lantibiotic mersacidin inhibits peptidoglycan synthesis by targeting lipid II. *Antimicrob. Agents Chemother.* **42**:154-160.

**Brotz, H., and H. G. Sahl.** 2000. New insights into the mechanism of action of lantibiotics-diverse biological effects by binding to the same molecular target. *J. Antimicrob. Chemother.* **46**:1-6

**Bugg, T. D., G. D. Wright, S. Dutka-Malen, M. Arthur, P. Courvalin, and C. T. Walsh.** 1991. Molecular basis for vancomycin resistance in *Enterococcus faecium* BM4147: biosynthesis of a depsipeptide peptidoglycan precursor by vancomycin resistance proteins VanH and VanA. *Biochemistry* **30**:10408-10415.

**Bugg, T. D., and C. T. Walsh.** 1992. Intracellular steps of bacterial cell wall peptidoglycan biosynthesis: enzymology, antibiotics, and antibiotic resistance. *Nat. Prod. Rep.* **9**:199-215.

**Bugg, T. D., and P. E. Brandish.** 1994. From peptidoglycan to glycoproteins: common features of lipid-linked oligosaccharide biosynthesis. *FEMS Microbiol. Lett.* **119**: 255-262.

**Bush, K., and S. Mobashery.** 1998. How beta-lactamases have driven pharmaceutical drug discovery. From mechanistic knowledge to clinical circumvention. *Adv. Exp. Med. Boil.* **456**:71-98.

**Bush, K., and M. Macielag.** 2000. New approaches in the treatment of bacterial infections. *Curr. Opin. Chem., Boil.* **4**:433-439.

**Bussiere, D. E., S. W. Muchmore, C. G. Dealwis, G. Schluckebier, V. L. Nienaber, R. P. Edalji, K. A. Walter, U. S. Lador, T. F. Holzman, and C. Abad-Zapatero.** 1998. Crystal structure of ErmC', an rRNA methyltransferase which mediates antibiotic resistance in bacteria. *Biochemistry* **37**:103-7112.

**Bycroft, B. W., C. Maslen, S. J. Box, A. Brown, and J. W. Tyler.** 1988. The biosynthetic implications of acetate and glutamate incorporation into (3R,5R)-carbapenam-3-carboxylic acid and (5R)-carbapen-2-em-3-carboxylic acid by *Serratia sp.* *J. Antibiot. (Tokyo)* **41**:1231-1242.

**Calfee, M. W., J. P. Coleman, and E. C. Pesci.** 2001. Interference with *Pseudomonas* quinolone signal synthesis inhibits virulence factor expression by *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc. Natl. acad. Sci. USA* **98**:11633-11637.

**Campbell, E. A., N. Korzheva, A. Mustaev, K. Murakami, S. Nair, A. Goldfarb, and S. A. Darst.** 2001. Structural mechanism for rifampicin inhibition of bacterial RNA polymerase. *Cell* **104**:901-912.

**Capobianco, J. O., Z. Cao, V. D. Shortridge, Z. Ma, R. K. Flamm, and P. Zhong.** 2000. Studies of the novel ketolide ABT-773: transport, binding to ribosomes, and inhibition of protein synthesis in *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **44**:1562-1567.

- Carter, A. P., W. M. Clemons, D. E. Brodersen, R. J. Morgan-Warren, B. T. Wimberly, and V. Ramakrishnan. 2000. Functional insights from the structure of the 30S ribosomal subunit and its interactions with antibiotics. *Nature* **407**:340-348.
- Cassidy, P. J., and F. M. Kahan. 1973. A stable enzyme-phosphoenolpyruvate intermediate in the synthesis of uridine-5'-diphospho-N-acetyl-2-amino-2-deoxy-glucose 3-O-enolpyruvyl ether. *Biochemistry* **12**:1364-1374.
- Cetinkaya, Y., P. Falk, and C. G. Mayhall. 2000. Vancomycin-resistant enterococci. *Clin. Microbial. Rev.* **13**:686-707.
- Chakraborty, R., and M. Bibb. 1997. The ppGpp synthetase gene (*relA*) of *Streptomyces coelicolor* A3 (2) plays a conditional role in antibiotic production and morphological differentiation. *J. Bacteriol.* **179**:5854-5861.
- Champaness, W. C. 2000. *Prokaryotic Development*. ASM Press, Washington, D. C.
- Chang, G., and C. B. Roth. 2001. Structure of MsbA from *E. coli*: a homolog of the multidrug resistance ATP binding cassette (ABC) transporters. *Science* **293**:1793-1800.
- Chang, H. M., M. Y. Chen, Y. T. Shieh, M. J. Bibb, and C. W. Chen. 1996. The cutRS signal transduction system of *Streptomyces lividans* represses the biosynthesis of the polyketide antibiotic actinorhodin. *Mol. Microbial.* **21**:1075-1085.
- Chang, Y. T., N. S. Gray, G. R. Rosania, D. P. Sutherland, S. Kwon, T. C. Norman, R. Sarabia, M. Leost, L. Meijer, and P. G. Schultz. 1999. Synthesis and application of functionally diverse 2,6,9-trisubstituted purine libraries as CDK inhibitors. *Chem. Biol.* **6**:361-375.
- Chen, H., M. G. Thomas, B. K. Hubbard, H. C. Losey, C. T. Walsh, and M. D. Burkart. 2000. Deoxysugars in glycopeptides antibiotics: enzymatic synthesis of TDP-L-epivancosamine in chloroeremomycin biosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **97**: 11942-11947.
- Chen, H., and C. T. Walsh. 2001. Coumarin formation in novobiocin biosynthesis: beta-hydroxylation of the aminoacyl enzyme tyrosyl-S-NovH by a cytochrome P450 NovI. *Chem. Biol.* **8**:301-312.
- Chen, X., S. Schauder, N. Potier, A. Van Dorsselaer, I. Pelczar, B. L. Bassler, and F. M. Hughson. 2002. Structural identification of a bacterial quorum-sensing signal containing boron. *Nature* **415**:545-549.
- Chirgadze, N. Y., S. L. Briggs, K. A. McAllister, A. S. Fischl, and G. Zhao. 2000. Crystal structure of *Streptococcus pneumoniae* acyl carrier protein synthase: an essential enzyme in bacterial fatty acid biosynthesis. *EMBO J.* **19**:5281-5287.
- Chopra, I., J. Hodgson, B. Metcalf, and G. Poste. 1997. The search for antimicrobial agents effective against bacteria resistant to multiple antibiotics. *Antimicrob. Agents Chemother.* **41**:497-503.
- Chopra, I., and M. Roberts. 2001. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbial. Mol. Biol. Rev.* **65**:232-260.
- Chu, D. T. 1999. Recent progress on novel macrolides, quinolones, and 2-pyridones to overcome bacterial resistance. *Med. Res. Rev.* **19**:497-520.
- Chu, D. T., J. J. Plattner, and L. Katz. 1996. New directions in antibacterial research. *J. Med. Chem.* **39**:3853-3874.
- Chuanchuen, R., K. Beinlich, T. T. Hoang, A. Becher, R. R. Karkhoff-Schweizer,

- and H. P. Schweizer. 2001. Cross-resistance between triclosan and antibiotics in *Pseudomonas aeruginosa* is mediated by multidrug efflux pumps: exposure of a susceptible mutant strain to triclosan selects *nfxB* mutants overexpressing MexCD-OprJ. *Antimicrob. Agents Chemother.* **45**:428-432.
- Clements, J. M., F. Coignard, I. Johnson, S. Chander, S. Palan, A. Waller, J. Wijk-mans, and M. G. Hunter. 2002. Antibacterial activities and characterization of novel inhibitors of LpxC. *Antimicrob. Agents Chemother.* **46**:1793-1799.
- Cockerill, F. R., III. 1999. Genetic methods for assessing antimicrobial resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.* **43**:199-212.
- Cohen, M. L. 2000. Changing patterns of infectious disease. *Nature* **406**:762-767.
- Coote, J. G. 1992. Structural and functional relationships among the RTX toxin determinants of gram-negative bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.* **8**:137-161.
- Cortes, J., S. F. Haydock, G. A. Roberts, D. J. Bevitt, and P. F. Leadlay. 1990. An unusually large multifunctional polypeptide in the erythromycin-producing polyketide synthase of *Saccharopolyspora erythraea*. *Nature* **348**:176-178.
- Couturier, M., M. el Bahassi, and L. Van Melderren. 1998. Bacterial death by DNA gyrase poisoning. *Trends Microbiol.* **6**:269-275.
- Cozzarelli, N. R. 1980. DNA gyrase and the supercoiling of DNA. *Science* **207**:953-960.
- Crump, M. P., J. Crosby, C. E. Dempsey, J. A. Parkinson, M. Murray, D. A. Hopwood, and T. J. Simpson. 1997. Solution structure of the actinorhodin polyketide synthase acyl carrier protein from *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Biochemistry* **36**:6000-6008.
- Cubbon, M. D., and R. G. Masterton. 2000. New quinolones — a fresh answer to the pneumococcus. *J. Antimicrob. Chemother.* **46**:869-872.
- Cudic, M., and L. Otvos, Jr. 2002. Intracellular targets of antibacterial peptides. *Curr. Drug Targets* **3**:101-106.
- Cudic, P., J. K. Kranz, D. C. Behenna, R. G. Kruger, H. Tadesse, A. J. Wand, Y. I. Veklich, J. W. Weisel, and D. G. McCafferty. 2002. Complexation of peptidoglycan intermediates by the lipoglycopeptide antibiotic ramoplanin: minimal structural requirements for intermolecular complexation and fibril formation. *Proc. Natl. acad. Sci. USA* **99**:7384-7389.
- Culver, G. M. 2001. Meanderings of the mRNA through the ribosome. *Structure* (Cambridge) **9**:751-758.
- Dancer, S. J. 2001. The problem with cephalosporins. *J. Antimicrob. Chemother.* **48**:463-478.
- Datta, N., and P. Kontomichalou. 1965. Penicillinase synthesis controlled by infectious R factors in Enterobacteriaceae. *Nature* **208**:239-41.
- Davies, J. 1994. Inactivation of antibiotics and the dissemination of resistance genes. *Science* **264**:375-382.
- Davis, J. R. Lederberg. 2000. *NAS Workshop Report: Emerging Infectious Diseases from the Global to the Local Perspective*. National Academy of Sciences, Washington, D. C.
- Decicco, C. P., D. J. Nelson, Y. Luo, L. Shen, K. Y. Horiuchi, K. M. Amsler, L. A. Foster, S. M. Spitz, J. J. Merrill, C. F. Sizemore, K. C. Rogers, R. A. Copeland, and M. R. Harpel. 2001. Glutamyl-gamma-boronate inhibitors of bacterial GlutRNA (Gln) amidotransferase. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **11**:2561-2564.

- Denome, S. A., P. K. Elf, T. A. Henderson, D. E. Nelson, and K. D. Young. 1999. *Escherichia coli* mutants lacking all possible combinations of eight penicillin binding proteins: viability, characteristics, and implications for peptidoglycan synthesis. *J. Bacteriol.* **181**:3981-3993.
- DeVito, J. A., J. A. Mills, V. G. Liu, A. Agarwal, C. F. Sizemore, Z. Yao, D. M. Stoughton, M. G. Cappiello, M. D. Barbosa, L. A. Foster, and D. L. pompliano. 2002. An array of target-specific screening strains for antibacterial discovery. *Nat. Biotechnol.* **20**:478-483.
- Diederichs, K., J. Diez, G. Greller, C. Muller, J. Breed, C. Schell, C. Vonnrhein, W. Boos, and W. Welte. 2000. Crystal structure of MalK, the ATPase subunit of the trehalose/maltose ABC transporter of the archaeon *Thermococcus litoralis*. *EMBO J.* **19**:5951-5961.
- Dinos, G. P., and D. L. Kalpaxis. 2000. Kinetic studies on the interaction between a ribosomal complex active in peptide bond formation and the macrolide antibiotics tylosin and erythromycin. *Biochemistry* **39**:11621-11628.
- Doekel, S., and M. A. Marahiel. 2001. Biosynthesis of natural products on modular peptide synthesis. *Metab. Eng.* **3**:64-77.
- Dolle, R. E. 2000. Comprehensive survey of combinatorial library synthesis: 1999. *J. Comb. Chem.* **2**:383-433.
- Donadio, S., M. J. Staver, J. B. McAlpine, S. J. Swanson, and L. Katz. 1991. Modular organization of genes required for complex polyketide biosynthesis. *Science* **252**:675-679.
- Dong, Y. H., J. L. Xu, X. Z. Li, and L. H. Zhang. 2000. AiiA, an enzyme that inactivates the acylhomoserine lactone quorum-sensing signal and attenuates the virulence of *Erwinia carotovora*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **97**:3526-3531.
- Dougherty, T. J., K. Kennedy, R. E. Kessler, and M. J. Pucci. 1996. Direct quantitation of the number of individual penicillin-binding proteins per cell in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* **178**:110-1115.
- Douthwaite, S., L. H. Hansen, and P. Mauvais. 2000. Macrolide-ketolide inhibition of MLS-resistant ribosomes is improved by alternative drug interaction with domain II of 23S rRNA. *Mol. Microbiol.* **36**:183-193.
- Drunkard, E., and F. M. Ausubel. 2002. *Pseudomonas* biofilm formation and antibiotic resistance are linked to phenotypic variation. *Nature* **416**:740-743.
- Drlica, K. 2001. Antibiotic resistance: can we beat the bugs? *Drug Discov. Today* **6**:714-715.
- Du, L., C. Sanchez, and B. Shen. 2001. Hybrid peptide-polyketide natural products: biosynthesis and prospects toward engineering novel molecules. *Metab. Eng.* **3**:78-95.
- Duitman, E. H., L. W. Hamoen, M. Rembold, G. Venema, H. Seitz, W. Saenger, F. Bernhard, R. Reinhardt, M. Schmidt, C. T. Stein, F. Leenders, and J. Vater. 1999. The mycosubtilin synthesis of *Bacillus subtilis* ATCC6633: a multifunctional hybrid between a peptide synthetase, an amino transferase, and a fatty acid synthase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**:13294-13299.
- Eggert, U. S., N. Ruiz, B. V. Falcone, A. A. Branstrom, R. C. Goldman, T. J. Silhavy, and D. Kahne. 2001. Genetic basis for activity differences between vancomycin and glycolipid derivatives of vancomycin. *Science* **294**:361-364.

- Elliot, T. S., J. G. M. Hastings, and U. Desselberger. 1997. *Lecture Notes on Medical Microbiology*, 3<sup>rd</sup> ed. Blackwell Scientific Publications, Ltd., Oxford, United Kingdom.
- Engberg, J., F. M. Aarestrup, D. E. Taylor, P. Gerner-Smidt, and I. Nachamkin. 2001. Quinolone and macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *C. coli*: resistance mechanisms and trends in human isolates. *Emerg. Infect. Dis.* 7:24-34.
- Enne, V. I., D. M. Livermore, P. Stephens, and L. M. Hall. 2001. Persistence of sulphonamide resistance in *Escherichia coli* in the UK despite national prescribing restriction. *Lancet* 357:1325-1328.
- Erlandsen, H., E. E. Abola, and R. C. Stevens. 2000. Combining structural genomics and enzymology: completing the picture in metabolic pathways and enzyme active sites. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 10:719-730.
- Falkows, S., and D. Kennedy. 2000. Antibiotics, animals, and people-again! *Science* 291:397.
- Fan, C., P. C. Moews, C. T. Walsh, and J. R. Knox. 1994. Vancomycin resistance: structure of D-alanine:D-alanine ligase at 2.3 Å resolution. *Science* 266:439-443.
- Fernandez-Lopez, S., H. S. Kim, E. C. Choi, M. Delgado, J. R. Granja, A. Khasanov, K. Kraehenbuehl, G. Long, D. A. Weinberger, K. M. Wilcoxon, and M. R. Ghadiri. 2001. Antibacterial agents based on the cyclic D,L- $\alpha$ -peptide architecture. *Nature* 412:452-455.
- Fierro, J. F., C. Hardisson, and J. A. Salas. 1987. Resistance to oleandomycin in *Streptomyces antibioticus*, the producer organism. *J. Gen. Microbiol.* 133(Pt. 7):1931-1939.
- Filipe, S. R., M. G. Pinho, and A. Tomasz. 2000. Characterization of the murMN operon involved in the synthesis of branched peptidoglycan peptides in *Streptococcus pneumoniae*. *J. Biol. Chem.* 275:27768-27774.
- Fisher, J., J. G. Belasco, S. Khosla, and J. R. Knowles. 1980.  $\beta$ -lactamase proceeds via an acyl-enzyme intermediate. Interaction of the *Escherichia coli* TEM enzyme with cefoxitin. *Biochemistry* 19:2895-2901.
- Fralick, J. A. 1996. Evidence that TolC is required for functioning of the Mar/AcrAB efflux pump of *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 178:5803-5805.
- Fuchs, P. C., A. L. Barry, and S. D. Brown. 2001. In vitro activities of ertapenem (MK-0826) against clinical bacterial isolates from 11 North American medical centers. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45:1915-1918.
- Fujihashi, M., Y. W. Zhang, Y. Higuchi, X. Y. Li, T. Koyama, and K. Miki. 2001. Crystal structure of cis-prenyl chain elongating enzyme, undecaprenyl diphosphate synthase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98:4337-4342.
- Galan, J. E., and A. Collmer. 1999. Type III secretion machines: bacterial devices for protein delivery into host cells. *Science* 284:1322-1328.
- Gale, E. F., E. Cundliffe, P. E. Reynolds, M. H. Richmond, and M. J. Waring. 1981. *The Molecular Basis of Antibiotic Action*, 2<sup>nd</sup> ed. Wiley, London, United Kingdom.
- Garrett, L. 1995. *The Coming Plague: Newly Emerging Diseases in a World out of Balance*. Virago, London, United Kingdom.
- Gaunt, P. N., and L. J. Piddock. 1996. Ciprofloxacin resistant *Campylobacter* spp. In humans: an epidemiological and laboratory study. *J. Antimicrob. Chemother.* 37:747-757.

- Ge, M., Z. Chen, H. R. Onishi, J. Kohler, L. L. Silver, R. Kerns, S. Fukuzawa, C. Thompson, and D. Kahne. 1999. Vancomycin derivatives that inhibit peptidoglycan biosynthesis without binding D-Ala-D-Ala. *Science* **284**:507-511.
- Gegnas, L. D., S. T. Waddell, R. M. Chabin, S. Reddy, and K. K. Wong. 1998. Inhibitors of the bacterial cell wall biosynthesis enzyme MurD. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **8**:1643-1618.
- Gehring, A. M., W. J. Lees, D. J. Mindiola, C. T. Walsh, and E. D. Brown. 1996. Acetyltransfer precedes uridylyltransfer in the formation of UDP-N-acetylglucosamine in separable active sites of the bifunctional GlmU protein of *Escherichia coli*. *Biochemistry* **35**:579-585.
- Ghuysen, J. M. 1991. Serine beta-lactamases and penicillin-binding proteins. *Annu. Rev. Microbiol.* **45**:37-67.
- Gokhale, R. S., S. Y. Tsuji, D. E. Cane, and C. Khosla. 1999. Dissecting and exploiting intermodular communication in polyketide synthases. *Science* **284**:482-485.
- Goldman, R. C., S. W. Fesik, and C. C. Doran. 1990. Role of protonated and neutral forms of macrolides in binding to ribosomes from gram-positive and gram-negative bacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.* **34**:426-431.
- Gorbach, S. L. 2001. Antimicrobial use in animal feed—time to stop. *N. Eng. J. Med.* **345**:1202-1203.
- Gould, I. M. 1999. A review of the role of antibiotic policies in the control of antibiotic resistance. *J. Antimicrob. Chemother.* **43**:459-465.
- Goussard, S., and P. Courvalin. 1999. Updated sequence information for TEM beta-lactamase genes. *Antimicrob. Chemother.* **43**:367-370.
- Greenwood, D., and F. O'Grady. 1969. A comparison of the effects of ampicillin on *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis*. *J. Med. Microbiol.* **2**:435-441.
- Greenwood, D. 2000. *Antimicrobial Chemotherapy*, 4<sup>th</sup> ed. Oxford University Press, Oxford, United Kingdom.
- Greenwood, D., and F. O'Grady. 1973. The two sites of penicillin action in *Escherichia coli*. *J. Infect. Dis.* **128**:791-794.
- Groisman, E. A. 2001. *Principles of Bacterial Pathogenesis*. Academic Press Inc., San Diego, Calif.
- Guan, K. L., and J. E. Dixon. 1990. Protein tyrosine phosphatase activity of an essential virulence determinant in *Yersinia*. *Science* **249**:553-556.
- Guo, L., K. B. Lim, J. S. Gunn, B. Bainbridge, R. P. Darveau, M. Hackett, and S. I. Miller. 1997. Regulation of lipid A modifications by *Salmonella typhimurium* virulence genes phoP-phoQ. *Science* **276**:250-253.
- Guo, L., K. B. Lim, C. M. Poduje, M. Daniel, J. S. Gunn, M. Hackett, and S. I. Miller. 1998. Lipid A acylation and bacterial resistance against vertebrate antimicrobial peptides. *Cell* **95**:189-198.
- Ha, S., E. Chang, M-C. Lo., H. Men, P. Park, M. Ge, and S. Walker. 1999. The kinetic characterization of *Escherichia coli* MurG using synthetic substrate analogues. *J. Am. Chem. Soc.* **121**:8415-8426.
- Ha, S., D. Walker, Y. Shi, and S. Walker. 2000. The 1.9 Å crystal structure of *Escherichia coli* MurG, a membrane-associated glycosyltransferase involved in peptidoglycan biosynthesis. *Protein Sci.* **9**:1045-1052.

- Hakenbeck, R.** 1998. Mosaic genes and their role in penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*. *Electrophoresis* **19**:597-601.
- Hakenbeck, R., T. Grebe, D. Zahner, and J. B. Stock.** 1999. Beta-lactam resistance in *Streptococcus pneumoniae*: penicillin-binding proteins and non-penicillin-binding proteins. *Mol. Microbiol.* **33**:673-678.
- Hall, D. G., S. Manku, and F. Wang.** 2001. Solution-and solid-phase strategies for the design, synthesis, and screening of libraries based on natural product templates: a comprehensive survey. *J. Comb. Chem.* **3**:125-150.
- Hancock, R. E., and D. S. Chapple.** 1999. Peptide antibiotics. *Antimicrob. Agents Chemother.* **43**:1317-1323.
- Hansen, J. N.** 1997. Nisin and related antimicrobial peptides, p. 437-470. In W. R. Strohl (ed.), *Biotechnology of Antibiotics*, 2<sup>nd</sup> ed. Marcel Dekker Inc., New York, N.Y.
- Hansen, J. L., J. A. Ippolito, N. Ban, P. Nissen, P. B. Moore, and T. A. Steitz.** 2002. The structures of four macrolide antibiotics bound to the large ribosomal subunit. *Mol. Cell* **10**:117-128.
- Hanzelka, B. L., M. R. Parsek, D. L. Val, P. V. Dunlap, J. E. Cronan, Jr., and E. P. Greenberg.** 1999. Acylhomoserine lactone synthase activity of the *Vibrio fischeri* AinS protein. *J. Bacteriol.* **181**:5766-5770.
- Hecht, S., W. Eisenreich, P. Adam, S. Amslinger, K. kis, A. bacher, D. Arigoni, and F. Rohdich.** 2001. Studies on the nonmevalonate pathway to terpenes: the role of the GcpE (IspG) protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **98**:14837-14842.
- Heddle, J. G., S. J. Blance, D. B. Zamble, F. Hollfelder, D. A. Miller, L. M. Wentzell, C. T. Walsh, and A. Maxwell.** 2001. The antibiotic microcin B17 is a DNA gyrase poison: characterization of the mode of inhibition. *J. Mol. Biol.* **307**:1223-1234.
- Hedl, M., A. Sutherlin, E. I. Wilding, M. Mazzulla, D. McDevitt, P. Lane, J. W. Burgner, 2<sup>nd</sup> K. R. Lehnbeuter, C. V. Stauffacher, M. N. Gwynn, and V. W. Rodwell.** 2002. *Enterococcus faecalis* acetoacetyl-coenzyme A thiolase/ 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase, a dual-function protein of isopentenyl diphosphate biosynthesis. *J. Bacteriol.* **184**:2116-2122.
- Heep, M., U. Rieger, D. Beck, and N. Lehn.** 2000. Mutations in the beginning of the rpoB gene can induce resistance to rifamycins in both *Helicobacter pylori* and *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **44**:1075-1077.
- Heerding, D. A., G. Chan, W. E. DeWolf, A. P. Fosberry, C. A. Janson, D. D. Jaworski, E. McManus, W. H. Miller, T. D. Moore, D. J. Payne, X. Qiu, S. F. Rittenhouse, C. Slater-Radosti, W. Smith, D. T. Takata, K. S. Vaidya, C. C. Yuan, and W. F. Huffman.** 2001. 1,4-Disubstituted imidazoles are potential antibacterial agents functioning as inhibitors of enoyl acyl carrier protein reductase. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **11**:2061-2065.
- Heffron, S. E., and F. Journak.** 2000. Structure of an EF-Tu complex with a thiazolyl peptide determined at 2.35 Å resolution: atomic basis for GE2270A inhibition of EF-Tu. *Biochemistry* **39**:37-45.
- Hensel, M., J. E. Shea, C. Gleeson, M. D. Jones, E. Dalton, and D. W. Holden.** 1995. Simultaneous identification of bacterial virulence genes by negative selection. *Science* **269**:400-403.



- Hilliard, J. J., R. M. Goldschmidt, L. Licata, E. Z. Baum, and K. Bush. 1999. Multiple mechanisms of action for inhibitors of histidine kinases from bacterial two component systems. *Antimicrob. Agents Chemother.* 43:1693-1699.
- Hiramatsu, K. 1998. The emergence of *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin in Japan. *Am. J. Med.* 104:7S-10S.
- Hiramatsu, K., L. Cui, M. Kuroda, and T. Ito. 2001. The emergence and evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol.* 9:486-493.
- Holdgate, G. A., A. Tunncliffe, W. H. Wards, S. A. Weston, G. Rosenbrock, P. T. Barth, I. W. Taylor, R. A. Pauptit, and D. Timms. 1997. The entropic penalty of ordered water accounts for weaker binding of the antibiotic novobiocin to a resistant mutant of DNA gyrase: a thermodynamic and crystallographic study. *Biochemistry* 36:9663-9673.
- Holtje, J. V. 1998. Growth of the stress-bearing and shape-maintaining murein sacculus of *Escherichia coli*. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 62:181-202.
- Hon, W. C., G. A. McKay, P. R. Thompson, R. M. Sweet, D. S. Yang, G. D. Wright, and A. M. Berghuis. 1997. Structure of an enzyme required for aminoglycoside antibiotic resistance reveals homology to eukaryotic protein kinases. *Cell* 89:887-895.
- Hopwood, D. A. 1997. Genetic contributions to understanding polyketide synthases. *Chem. Rev.* 97:2465-2498.
- Hu, H., Q. Zhang, and K. Ochi. 2002. Activation of antibiotic biosynthesis by specified mutations in the *rpoB* gene (encoding the RNA polymerase beta subunit) of *Streptomyces lividans*. *J. Bacteriol.* 184:3984-3991.
- Hubbard, B. K., M. G. Thomas, and C. T. Walsh. 2000. Biosynthesis of L-p-hydroxyphenylglycine, a non-proteinogenic amino acid constituent of peptide antibiotics. *Chem. Biol.* 7:931-942.
- Hubbard, B. K., and C. T. Walsh. Vancomycin assembly; Nature's way. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, in press.
- Hughes, J. M., and F. C. Tenover. 1997. Approaches to limiting emergence of antimicrobial resistance in bacteria in human populations. *Clin. Infect. Dis.* 24(Suppl.1): S131-S135.
- Hung, L. W., I. X. Wang, K. Nikaido, P. Q. Liu, G. F. Ames, and S. H. Kim. 1998. Crystal structure of the ATP-binding subunit of an ABC transporter. *Nature* 396:703-707.
- Huntington, K. M., T. Yi, Y. Wei, and D. Pei. 2000. Synthesis and antibacterial activity of peptide deformylase inhibitors. *Biochemistry* 39:4543-4551.
- Hutchinson, C. R. 1997. Antibiotics from genetically engineered microorganisms, p.683-702. In W. R. Strohl (ed.), *Biotechnology of Antibiotics*, 2<sup>nd</sup> ed. Marcel Dekker Inc., New York, N.Y.
- Hutchinson, C. R., and I. Fujii. 1995. Polyketide synthase gene manipulation: a structure-function approach in engineering novel antibiotics. *Annu. Rev. Microbiol.* 49:201-238.
- Ilangovan, U., H. Ton-That, J. Iwahara, O. Schneewind, and R. T. Clubb. 2001. Structure of sortase, the transpeptidase that anchors proteins to the cell wall of *Staphylococcus aureus*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98:6056-6061.

- Isberg, R. R., and J. M. Leong.** 1990. Multiple beta 1 chain integrins are receptors for invasion, a protein that promotes bacterial penetration into mammalian cells. *Cell* **60**:861-871.
- Jack, R., G. Bierbaum, C. Heidrich, and H. G. Sahl.** 1995. The genetics of lantibiotic biosynthesis. *Bioassays* **17**:793-802.
- Jackman, J. E., C. R. Raetz, and C. A. Fierke.** 1999. UDP-3-O-(R-3-hydroxymyristoyl)-N-acetylglucosamine deacetylase of *Escherichia coli* is a zinc metalloenzyme. *Biochemistry* **38**:1902-1911.
- Jacobs, C., J. M. Frere, and S. Normark.** 1997. Cytosolic intermediates for cell wall biosynthesis and degradation control inducible beta-lactam resistance in gram-negative bacteria. *Cell* **88**:823-832.
- Jain, R., M. C. Rivera, and J. A. Iake.** 1999. Horizontal gene transfer among genomes: the complexity hypothesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**:3801-3806.
- Jarvest, R. L., J. M. Berge, C. S. Houge-Frydrych, L. M. Mensah, P. J. O'Hanlon, and A. J. Pope.** 2001. Inhibitors of bacterial tyrosyl tRNA synthetase: synthesis of carbocyclic analogues of the natural product SB-219383. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **11**:2499-2502.
- Ji, Y., B. Zhang, S. F. Van Horn, P. Warren, G. Woodnutt, M. K. Burnham, and M. Rosenberg.** 2001. Identification of critical staphylococcal genes using conditional phenotypes generated by antisense RNA. *Science* **293**:2266-2269.
- Jiang, W., J. Wanner, R. J. Lee, P. Y. Bounaud, and D. L. Boger.** 2002. Total synthesis of the ramoplanin A2 and ramoplanose aglycon. *J. Am. Chem. Soc.* **124**:5288-5290.
- Kahan, J. S., F. M. Kahan, R. Goegelman, S. A. Currie, M. Jackson, E. O. Stapley, T. W. Miller, A. K. Miller, D. Hendlin, S. Mochales, S. Hernandez, H. B. Woodruff, and J. Birnbaum.** 1979. Thienamycin, a new beta-lactam antibiotic. I. Discovery, taxonomy, isolation and physical properties. *J. Antibiot. (Tokyo)* **32**:1-12.
- Kaper, J. B., and A. D. O'Brien.** 1998. *Escherichia coli* O157:H7 and other Shiga toxin-producing *E. coli* strains. ASM Press, Washington, D.C.
- Karmali, M. A.** 1989. Infection by verocytotoxin-producing *Escherichia coli*. *Clin. Microbial. Rev.* **2**:15-38.
- Katz, L.** 1997. Manipulation of modular polyketide synthases. *Chem., Rev.* **97**:2557-2576.
- Kawachi, R., U. Wangchaisoonthorn, T. Nihira, and Y. Yamada.** 2000. Identification by gene deletion analysis of a regulate. VmsR, that controls virginiamycin biosynthesis in *Streptomyces virginiae*. *J. Bacteriol.* **182**:6259-6263.
- Keating, T. A., and C. T. Walsh.** 1999. Initiation, elongation, and termination strategies in polyketide and polypeptide antibiotic biosynthesis. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **3**:598-606.
- Kemp, L. E., C. S. Bond, and W. N. Hunter.** 2002. Structure of 2C-methyl-D-erythritol 2,4-cyclodiphosphate synthase: an essential enzyme for isoprenoid biosynthesis and target for antimicrobial drug development. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **99**:6591-6596.
- Khaleeli, n., R. W. Busby, and C. A. Townsend.** 2000. Site-directed mutagenesis and biochemical analysis of the endogenous ligands in the ferrous active site of clavaminatase: the His-3 variant of the 2\_His-1-carboxylate mold. *Biochemistry* **39**:8666-8673.
- Khosla, C.** 1997. Harnessing the biosynthetic potential of modular polyketide synthases. *Chem., Rev.* **97**:2577-2590.
- Kieser, T., K. F. Chater, M. Bibb, M. J. Buttner, and D. A. Hopwood.** 2000. *Practical Streptomyces Genetics*. The John Innes Foundation, Norwich.

- Kinoshita, K., P. G. Willard, C. Khosla, and D. E. Cane. 2001. Precursor-directed biosynthesis of 16-membered macrolides by the erythromycin polyketide synthase. *J. Am. Chem. Soc.* **123**:2495-2502.
- Kleerebezem, M., L. E. Quadri, O. P. Kuipers, and W. M. de Vos. 1997. Quorum sensing by peptide pheromones and two-component signal-transduction systems in gram-positive bacteria. *Mol. Microbiol.* **24**:895-904.
- Kloss, P., L. Xiong, D. L. Shinabarger, and A. S. Mankin. 1999. Resistance mutations in 23S rRNA identify the site of action of the protein synthesis inhibitor linezolid in the ribosomal peptidyl transferase center. *J. Mol. Biol.* **294**:93-101.
- Knowles, J. R. 1985. Penicillin resistance: the chemistry of  $\beta$ -lactamase inhibition. *Acc. Chem. Res.* **18**:97-104.
- Knox, J. R. 1995. Extended-spectrum and inhibitor-resistant TEM-type beta-lactamase: mutations, specificity, and three-dimensional structure. *Antimicrob. Agents Chemother.* **39**:2593-2601.
- Knox, J. R., P. C. Moews, and J. M. Frere. 1996. Molecular evolution of bacterial beta-lactam resistance. *Chem. Biol.* **3**:937-947.
- Kobayashi, K., M. Ogura, H. Yamaguchi, K. Yoshida, N. Ogasawara, T. Tanaka, and Y. Fujita. 2001. Comprehensive DNA microarray analysis of *Bacillus subtilis* two-component regulatory systems. *J. Bacteriol.* **183**:7365-7370.
- Koebnik, R., K. P. Locher, and P. Van Gelder. 2000. Structure and function of bacterial outer membrane proteins: barrels in a nutshell. *Mol. Microbiol.* **37**:239-253.
- Konz, D., and M. A. Marahiel. 1999. How do peptide synthetases generate structural diversity? *Chem. Biol.* **6**:R39-R48.
- Koppisch, A. T., D. T. Fox, B. S. Blagg, and C. D. Poulter. 2002. E. coli MEP synthase: steady-state kinetic analysis and substrate binding. *Biochemistry* **41**:236-243.
- Koronakis, V., A. Sharff, E. Koronakis, B. Luisi, and C. Hughes. 2000. Crystal structure of the bacterial membrane protein TolC central to multidrug efflux and protein export. *Nature* **405**:914-919.
- Kostrewa, D., A. D'Arcy, B. Takacs, and M. Kamber. 2001. Crystal structures of *Streptococcus pneumoniae* N-acetylglucosamine-1-phosphate uridylyltransferase, GlmU, in apo form at 2.33 Å resolution and in complex with UDP-N-acetylglucosamine and Mg(2+) at 1.96 Å resolution. *J. Mol. Biol.* **305**:279-289.
- Kotra, L. P., J. Haddad, and S. Mobashery. 2000. Aminoglycosides: perspectives on mechanisms of action and resistance and strategies to counter resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.* **44**:3249-3256.
- Kragol, G., S. Lovas, G. Varadi, B. A. Condie, R. Hoffmann, and L. Otvos, Jr. 2001. The antibacterial peptide pyrrolicocin inhibits the ATPase actions of DnaK and prevents chaperone-assisted protein folding. *Biochemistry* **40**:3016-3026.
- Kunin, C. M. 1997. Antibiotic Armageddon. *Clin. Infect. Dis.* **25**:240-241.
- Kuroda, M., T. Ohta, I. Uchiyama, T. Baba, H. Yuzawa, I. Kobayashi, L. Cui, A. Oguchi, K. Aoki, Y. Nagai, J. Lian T. Ito, M. Kanamori, H. Matsumaru, A. Maruyama, H. Murakami, A. Hosoyama, Y. Mizutani-Ui, N. K. Takahashi, T. Sawano, R. Inoue, C.

- Kaito, K. Sekimizu, H. Hirakawa, S. Kuhara, S. Goto, J. Yabuzaki, M. Kanehisa, A. Yamashita, K. Oshima, K. Furuya, C. Yoshino, T. Shiba, M. Hattori, N. Ogasawara, H. Hayashi, and K. Hiramatsu. 2001. Whole genome sequencing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet* 357:1225-1240.
- Kurokawa, H., T. Yagi, N. Shibata, K. Shibayama, and Y. Arakawa. 1999. Worldwide proliferation of carbapenem-resistant gram-negative bacteria. *Lancet* 354:955.
- Kurz, M., and W. Guba. 1996. 3D structure of ramoplanin: a potent inhibitor of bacterial cell wall synthesis. *Biochemistry* 35:12570-12575.
- Kurz, M., W. Guba, and L. Vertesy. 1998. Three-dimensional structure of moenomycin, a—a potent inhibitor of penicillin-binding protein 1b. *Eur. J. Biochem.* 252:500-507.
- Kuzin, A. P., T. Sun, J. Jorczak-Baillass, V. L. Healy, C. T. Walsh, and J. R. Knox. 2000. Enzymes of vancomycin resistance: the structure of D-alanine-D-lactate ligase of naturally resistant *Leuconostoc mesenteroides*. *Structure* 8:463-470.
- Lambalot, R. H., A. M. Gehring, R. S. Flugel, P. Zuber, M. LaCelle, M. A. Marahiel, R. Reid, C. Khosla, and C. T. Walsh. 1996. A new enzyme superfamily—the phosphopantetheinyl transferases. *Chem. Biol.* 3:923-936.
- Lancini, G. 1983. Ansamycins, p. 231-254. In L. C. Vining (ed.), *Biochemistry and Genetic Regulation of Commercially Important Antibiotics*. Addison-Wesley Publishing Co., Inc., Reading, Mass.
- Lee, D., J. K. Sello, and S. L. Schreiber. 1999. A strategy for macrocyclic ring closure and functionalization aimed toward split-pool syntheses. *J. Am. Chem. Soc.* 121:10648-10649.
- Lee, J., S. U. Kang, S. Y. Kim, S. E. Kim, Y. J. Job, and S. Kim. 2001. Vanilloid and isovanilloid analogues as inhibitors of methionyl-tRNA and isoleucyl-tRNA synthetases. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 11:965-968.
- Lee, V. J., and S. J. Hecker. 1999. Antibiotic resistance versus small molecules, the chemical evolution. *Med. Res. Rev.* 19:521-542.
- Lee, V. T., and O. Schneewind. 2001. Protein secretion and the pathogenesis of bacterial infections. *Genes Dev.* 15:1725-1752.
- Lessard, I. A., V. L. Healy, I. S. Park, and C. T. Walsh. 1999. Determinants for differential effects on D-Ala-D-lactate vs D-Ala-D-Ala formation by the VanA ligase from vancomycin-resistant enterococci. *Biochemistry* 38:14006-14022.
- Lessard, I. A., and C. T. Walsh. 1999. Mutational analysis of active-site residues of the enterococcal D-Ala-D-Ala dipeptidase VanX and comparison with *Escherichia coli* D-Ala-D-Ala ligase and D-Ala-D-Ala carboxypeptidase VanY. *Chem. Biol.* 6:177-187.
- Levy, S. B. 1992. *The Antibiotic Paradox: How Miracle Drugs are Destroying the Miracle*. Plenum Press, New York, N.Y.
- Levy, S. B. 1998. The challenge of antibiotic resistance. *Sci. Am.* 278:46-53.
- Levy, S. B. 2001. Antimicrobial resistance potential. *Lancet* 358:1100-1101.
- Lewis, H. A., E. B. Furlong, B. Laubert, G. A. Eroshkina, Y. Batiyenko, J. M. Adams, M. G. Bergsied, C. D. Marsh, T. S. Peat, W. E. Sanderson, J. M. Sauder, and S. G. Buchanan. 2001. A structural genomics approach to the study of quorum sensing: crystal structures of three LuxS orthologs. *Structure* 9:527-537.

- Lewis, R. J., O. M. Singh, C. V. Smith, T. Skarzyski, A. Maxwell, A. J. Wonacott, and D. B. Wigley. 1996. The nature of inhibition of DNA gyrase by the coumarins and the cyclohalidines revealed by X-ray crystallography. *EMBO J.* 15:1412-1420.
- Li, R., N. Khaleeli, and C. A. Townsend. 2000. Expansion of the clavulanic acid gene cluster: identification and in vivo functional analysis of three new genes required for biosynthesis of clavulanic acid by *Streptomyces clavuligerus*. *J. Bacteriol.* 182:4087-4095.
- Lim, D., H. U. Park, L. De Castro, S. G. Kang, H. S. Lee, S. Jensen, K. J. Lee, and N. C. Strynadka. 2001. Crystal structure and kinetic analysis of beta-lactamase inhibitor protein-II in complex with TEM-1 beta-lactamase. *Nat. Struct. Biol.* 8:848-852.
- Lindsley, C. W., L. K. Chan, B. C. Goess, R. Joseph, and M. D. Shair. 2000. Solid phase biomimetic synthesis of carpanone-like molecules. *J. Am. Chem. Soc.* 122:422-423.
- Liu, H., R. Sadamoto, P. S. Sears, and C. H. Wong. 2001. An efficient chemo-enzymatic strategy for the synthesis of wild-type and vancomycin-resistant bacterial cell-wall precursors: UDP-N-acetylmuramyl-peptides. *J. Am. Chem. Soc.* 123:9916-9917.
- Liu, H. W., and J. S. Thorson. 1994. Pathways and mechanisms in the biogenesis of novel deoxysugars by bacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* 48:223-256.
- Livermore, D. M. 2000. Quinupristin/dalfopristin and linezolid: where, when, which and whether to use? *J. Antimicrob. Chemother.* 46:347-350.
- Livermore, D. M., and N. Woodford. 2000. Carbapenemases: a problem in waiting? *Curr. Opin. Microbiol.* 3:489-495.
- Lo, M.-C., H. Men, A. Branstrom, J. Helm, N. Yao, R. Goldman, and S. Walker. 2000. A new mechanism of action proposed for ramoplanin. *J. Am. Chem. Soc.* 122:3540-3541.
- Locher, K. P., A. T. Lee, and D. C. Rees. 2002. The E. coli BtuCD structure: a framework for ABC transporter architecture and mechanism. *Science* 296:1091-1098.
- Lomovskaya, O., M. S. Warren, A. Lee, J. Galazzo, R. Fronko, M. Lee, J. Blais, D. Cho, S. Chamberland, T. Renau, R. Leger, S. Hecker, W. Watkins, K. Hoshino, H. Ishida, and V. J. Lee. 2001. Identification and characterization of inhibitors of multidrug resistance efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa*: novel agents for combination therapy. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45:105-116.
- Lorenz, M. C., and G. R. Fink. 2001. The glyoxylate cycle is required for fungal virulence. *Nature* 412:83-86.
- Lorian, V., and F. Fernandes. 1997. The effect of vancomycin on the structure of vancomycin-susceptible and resistant *Enterococcus faecium* strains. *Antimicrob. Agents Chemother.* 41:1410-1411.
- Losey, H. C., M. W. Pecuh, Z. Chen, U. S. Eggert, S. D. Dong, I. Pelczer, D. Kahne, and C. T. Walsh. 2001. Tandem action of glycosyltransferases in the maturation of vancomycin and teicoplanin aglycones: novel glycopeptides. *Biochemistry* 40:4745-4755.
- Lowy, F. D. 1998. *Staphylococcus aureus* infections. *N. Engl. J. Med.* 339:520-532.
- Lyon, G. J., P. Mayville, T. W. Muir, and R. P. Novick. 2000. Rational design of a global inhibitor of the site of the virulence response in *Staphylococcus aureus*, based in part on localization of the site of inhibition to the receptor-histidine kinase, AgrC. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:13330-13335.
- Ma, Y., F. Pan, and M. McNeil. 2002. Formation of dTDP-rhamnose is essential for growth of mycobacteria. *J. Bacteriol.* 184:3392-3395.

- Mahan, M. J., J. M. Schlauch, and J. J. Mekalanos. 1993. Selection of bacterial virulence genes that are specifically induced in host tissues. *Science* **259**:686-688.
- Mahan, M. J., J. W. Tobias, J. M. Schlauch, P. C. Hanna, R. J. Collier, and J. J. Mekalanos. 1995. Antibiotic-based selection for bacterial genes that are specifically induced during infection of a host. *Proc. Natl. acad. Sci. USA* **92**:669-673.
- Maiti, S. N., O. A. Phillips, R. G. Micetich, and D. M. Livermore. 1998. Beta-lactamase inhibitors: agents to overcome bacterial resistance. *Curr. Med. Chem.* **5**:441-456.
- Malik, V. S. 1972. Chloramphenicol. *Adv. Appl. Microbiol.* **15**:297-336.
- Manges, A. R., J. R. Johnson, B. Foxman, T. T. O'Bryan, K. E. Fullerton, and L. W. Riley. 2001. Widespread distribution of urinary tract infections caused by a multidrug resistant *Escherichia coli* clonal group. *N. Engl. J. Med.* **345**:1007-1013.
- Marahiel, M. A., T. Stachelhaus, and H. D. Mootz. 1997. Modular peptide synthetases involved in nonribosomal peptide synthesis. *Chem. Rev.* **97**:2651-2674.
- Marmor, S., C. P. Petersen, F. Reck, W. Yang, N. Gao, and S. L. Fisher. 2001. Biochemical characterization of a phosphinate inhibitor of *Escherichia coli* MurC. *Biochemistry* **40**:12207-12214.
- Marshall, C. G., G. Broadhead, B. K. Leskiw, and G. D. Wright. 1997. D-Ala-D-Ala ligases from glycopeptides antibiotic-producing organisms are highly homologous to the enterococcal vancomycin-resistance ligases VaA and VanB. *Proc. Natl. acad. Sci. USA* **94**:6480-6483.
- Marshall, C. G., I. A. Lessard, I. Park, and G. D. Wright. 1998. Glycopeptides antibiotic resistance genes in glycopeptides-producing organisms. *Antimicrob. Agents Chemother.* **42**:2215-2220.
- Martinez, M. B., M. Flickenger, L. Higgins, T. Krick, and G. L. Nelsestuen. 2001. Reduced outer membrane permeability of *Escherichia coli* O157:H7: suggested role of modified outer membrane porins and theoretical function in resistance to antimicrobial agents. *Biochemistry* **40**:11965-11974.
- Martinez-Hackert, E., S. Harlocker, M. Inouye, H. M. Berman, and A. M. Stock. 1996. Crystallization, X-ray studies, and site-directed cysteine mutagenesis of the DNA-binding domain of OmpR. *Protein Sci.* **5**:1429-1433.
- Martinez-Hackert, E., and A. M. Stock. 1997. The DNA-binding domain of PmpR: crystal structure of a winged helix transcription factor. *Structure* **5**:109-124.
- Massova, I., and S. Mobashery. 1998. Kinship and diversification of bacterial penicillin-binding proteins and beta-lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother.* **42**:1-17.
- Matsushita, M., and K. D. Janda. 2002. Histidine kinases as targets for new antimicrobial agents. *Bioorg. Med. Chem.* **10**:855-867.
- Maxwell, A. 1997. DNA gyrase as a drug target. *Trends Microbiol.* **5**:102-109.
- Mazmanian, S. K., G. Liu, H. Ton-That, and O. Schneewind. 1999. Staphylococcus aureus sortase, an enzyme that anchors surface proteins to the wall. *Science* **285**:760-763.
- Mazmanian, S. K., H. Ton-That, and O. Schneewind. 2001. Sortase-catalysed anchoring of surface proteins to the cell wall of *Staphylococcus aureus*. *Mol. Microbiol.* **40**:1049-1057.
- McCafferty, D. G., P. Cudic, M. K. Yu, D. C. Behenna, and R. Kruger. 1999. Synergy and duality in peptide antibiotic mechanisms. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **3**:672-680.
- McClelland, M., K. E. Sanderson, J. Spieth, S. W. Clifton, P. Latreille, L. Courtney, S. Porwollik, J. Ali, M. Dante, F. Du, S. Hou, D. Layman, S. Leonard, C. Nguyen, K. Scoot,

- A. Holmes, N. Grewal, E. Mulvaney, E. Ryan, H. Sun, L. Florea, W. Miller, T. Stoneking, M. Nhan, R. Waterston, and R. K. Wilson. 2001. Complete genome sequence of *Salmonella enteric* serovar Typhimurium LT2. *Nature* **413**:852-856.
- McDaniel, R., A. Thamchaipenet, C. Gustafsson, H. Fu, M. Betlach, and G. Ashley. 1999. Multiple genetic modifications of the erythromycin polyketide synthase to produce a library of novel "unnatural" natural products. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**:1846-1851.
- McDevitt, D., and M. Rosenberg. 2001. Exploiting genomics to discover new antibiotics. *Trends microbial.* **9**:611-617.
- McDonald, L. C., S. Rossiter, C. Mackinson, Y. Y. Wang, S. Johnson, M. Sullivan, R. Sokolow, E. DeBess, L. Gilbert, J. A. Benson, B. Hill, and F. J. Angulo. 2001. Quinupristin-dalfopristin-resistant *Enterococcus faecium* on chicken and in human stool specimens. *N. Engl. J. Med.* **345**:1155-1160.
- McDowell, P., Z. Affas, C. Reynolds, M. T. Holden, S. J. Wood, S. Saint, A. Cockayne, P. J. Hill, C. E. Dodd, B. W. Bycroft, W. C. Chan, and P. Williams. 2001. Structure, activity and evolution of the group I thiolactone peptide quorum-sensing system of *Staphylococcus aureus*. *Mol. Microbial.* **41**:503-512.
- McGowan, J. E., Jr., and F. C. Tenover. 1997. Control of antimicrobial resistance in the health care system. *Infect. Dis. Clin. North. Am.* **11**:297-311.
- McKinney, J. D., K. Honer zu Bentrup, E. J. Munoz-Elias, A. Mieczak, B. Chen, W. T. Chan, D. Swenson, J. C. Sacchettini, W. R. Jacobs, Jr., and D. G. Russell. 2000. Persistence of *Mycobacterium tuberculosis* in macrophages and mice requires the glyoxylate shunt enzyme isocitrate lyase. *Nature* **406**:735-738.
- McKinney, T. K., V. K. Sharma, W. A. Craig, and G. L. Archer. 2001. Transcription of the gene mediating methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* (*mecA*) is co-repressed but not coinduced by cognate *mecA* and beta-lactamase regulators. *J. Bacteriol.* **183**:6862-6868.
- McMahon, G., L. Su, C. Liang, and C. Tang. 1998. Protein kinase inhibitors: structure determinants for target specificity. *Curr. Opin. Drug. Discov.* **1**:131-146.
- McMurry, L. M., M. Oethinger, and S. B. Levy. 1998. Triclosan targets lipid synthesis. *Nature* **394**:531-532.
- Mead, P. S., L. Slutsker, V. Dietz, L. F. McCaig, J. S. Bresee, C. Shapiro, P. M. Griffin, and R. V. Tauxe. 1999. Food-related illness and death in the United States. *Emerg. Infect. Dis.* **5**:607-625.
- Men, H., P. Park, M. Ge, and S. Walker. 1998. Substrate synthesis and activity assay for MurG. *J. Am. Chem. Soc.* **120**:2484-2485.
- Mengin-Lecreux, D., and J. van Heijenoort. 1994. Co purification of glucosamine-1-phosphate acetyltransferase and N-acetylglucosamine-1-phosphate uridylyltransferase activities of *Escherichia coli*: characterization of the *glum* gene product as a bifunctional enzyme catalyzing two subsequent steps in the pathway for UDP-N-acetylglucosamine synthesis. *J. Bacteriol.* **176**:5788-5795.
- Miller, D. A., L. Luo, N. Hillson, T. A. Keating, and C. T. Walsh. 2002. Yersiniabactin synthetase. A four-protein assembly line producing the nonribosomal peptide/polyketide hybrid siderophore of *Yersinia pestis*. *Chem. Biol.* **9**:333-344.
- Miller, D. J., S. M. Hammond, D. Anderluzzi, and T. D. H. Bugg. 1998. Amino-alkylphosphate inhibitors of D-Ala-D-Ala adding enzyme. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* **1**:131-142.

- Miller, M. B., and B. L. Bassler. 2001. Quorum sensing in bacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* **55**:165-199.
- Miller, M. T., B. O. Bachmann, C. A. Townsend, and A. L. Rosenzweig. 2001. Structure of  $\beta$ -lactam synthetase reveals how to synthesize antibiotics instead of asparagines. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **8**:684-689.
- Mitcher, L. A., S. P. Pillai, E. J. Gentry, and D. M. Shankel. 1999. Multiple drug resistance. *Med. Res. Rev.* **19**:477-496.
- Mittl, P. R., and M. G. Grutter. 2001. Structural genomics: opportunities and challenges. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **5**:402-408.
- Miyadoh, S., N. Tsuchizaki, J. Ishikawa, and K. Hotta. 1997. *Atlas of Actinomycetes*. Asakura Publishing Co., Ltd., Tokyo, Japan.
- Molbak, K., D. L. Baggesen, F. M. Aarestrup, J. M. Ebbesen, J. Engberg, K. Frydendahl, P. Gerner-Smidt, A. M. Petersen, and H. C. Wegener. 1999. An outbreak of multidrug-resistant, quinolone-resistant *Salmonella enterica* serotype Typhimurium DT104. *N. Engl. J. Med.* **341**:1420-1425.
- Murray, B. E. 2000. Problems and perils of vancomycin resistant enterococci. *Braz. J. Infect. Dis.* **4**:9-14.
- Nagai, K., T. A. Davies, M. R. Jacobs, and P. C. Appelbaum. 2002. Effects of amino acid alterations in penicillin-binding proteins (PBPs) 1a, 2b, and 2x on PBP affinities of penicillin, ampicillin, amoxicillin, cefuroxime, cefprozil, and cefaclor in 18 clinical isolates of penicillin-susceptible, -intermediate, and -resistant pneumococci. *Antimicrob. Agents Chemother.* **46**:1273-1280.
- Nataro, J. P., and J. B. Kaper. 1998. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin. Microbiol. Rev.* **11**:142-201.
- Navarre, W. W., and O. Schneewind. 1999. Surface proteins of gram-positive bacteria and mechanisms of their targeting to the cell wall envelope. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **63**:174-229.
- Navarro, F., and P. Courvalin. 1994. Analysis of genes encoding D-alanine-D-alanine ligase-related enzymes in *Enterococcus casseliflavus* and *Enterococcus faecalis*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **38**:1788-1793.
- Neuhaus, F. C., and W. P. Hammes. 1981. Inhibition of cell wall biosynthesis by analogues and alanine. *Pharmacol. Ther.* **14**:265-319.
- Ng, E. Y., M. Trucksis, and D. C. Hooper. 1996. Quinolone resistance mutations in topoisomerase IV: relationship to the flqA locus and genetic evidence that topoisomerase IV is the primary target and DNA gyrase is the secondary target of fluoroquinolones in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **40**:1881-1888.
- Nicholson, T. P., B. A. Rudd, M. Dawson, C. M. Lazarus, T. J. Simpson, and R. J. Cox. 2001. Design and utility of oligonucleotide gene probes for fungal polyketide synthases. *Chem. Biol.* **8**:157-178.
- Nicolaou, K. C., J. A. Pfefferkorn, A. J. Roecker, G.-Q. Cao, S. Barluenga, and H. J. Mitchell. 2000a. Natural product-like combinatorial libraries based on privileged structures. 1. General principles and solid-phase synthesis of benzopyrans. *J. Am. Chem. Soc.* **122**:9939-9953.



- Nicolaou, K. C., J. A. Pfefferkorn, H. J. Mitchell, A. J. Roecker, S. Barluenga, G.-Q. Cao, R. L. Affleck, and J. E. Lillig. 2000b. Natural product-like combinatorial libraries based on privileged structures. 2. Construction of a 10,000-membered benzopyran library by directed split-and-pool chemistry using NanoKans and optical encoding. *J. Am. Chem. Soc.* **122**:9954-9967.
- Nicolaou, K. C., J. A. Pfefferkorn, S. Barluenga, H. J. Mitchell, A. J. Roecker, and G.-Q. Cao. 2000c. Natural product-like combinatorial libraries based on privileged structures. 3. The "libraries from libraries" principle for diversity enhancement of benzopyran libraries. *J. Am. Chem. Soc.* **122**:9968-9976.
- Nikaido, H. 1994. Prevention of drug access to bacterial targets: permeability barriers and active efflux. *Science* **264**:382-388.
- Nikaido, H. 1998. Antibiotic resistance caused by gram-negative multidrug efflux pumps. *Clin. Infect. Dis.* **27**: (Suppl. 1):S32-S41.
- Nishino, K., and A. Yamaguchi. 2001. Analysis of a complete library of putative drug transporter genes in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* **183**:5803-5812.
- Nissen, P., J. Hansen, N. Ban, P. B. Moore, and T. A. Steitz. 2000. The structural basis of ribosome activity in peptide bond synthesis. *Science* **289**:920-930.
- Nouwen, N., N. Ranson, H. Saibil, B. Wolpensinger, A. Engel, A. Ghazi, and A. P. Pugsley. 1999. Secretin PulD: association with pilot PulS, structure, and ion conducting channel formation. *Proc. Natl. acad. Sci. USA* **96**:8173-8177.
- Novak, R., E. Charpentier, J. S. Braun, and E. Tuomanen. 2000. Signal transduction by a death signal peptide: uncovering the mechanism of bacterial killing by penicillin. *Mol. Cell* **5**:49-57.
- Novick, R. P. 1962. Staphylococcal penicillinase and new penicillins. *J. Bacteriol.* **83**:229-234.
- Nyquist, A. C., R. Gonzales, J. F. Steiner, and M. A. Sande. 1998. Antibiotic prescribing for children with colds, upper respiratory tract infections, and bronchitis. *JAMA* **279**:875-877.
- Onishi, H. R., B. A. Pelak, L. S. Gerckens, L. L. Silver, F. M. Kahan, M. H. Chen, A. A. Patchett, S. M. Galloway, S. A. Hyland, M. S. Anderson, and C. R. Raetz. 1996. Antibacterial agents that inhibit lipid A biosynthesis. *Science* **274**:980-982.
- Onodera, Y., Y. Uchida, M. Tanaka, and K. Sato. 1999. Dual inhibitory activity of sitafloxacin (DU-6859a) against DNA gyrase and topoisomerase IV of *Streptococcus pneumoniae*. *J. Antimicrob. Chemother.* **44**:533-536.
- Orth, P., D. Schnappinger, W. Hillen, W. Saenger, and W. Hinrichs. 2000. Structural basis of gene regulation by the tetracycline inducible Tet repressor-operator system. *Nat. Struct. Biol.* **7**:215-219.
- O'Sullivan, J., and C. Ball. 1983.  $\beta$ -lactams, p. 73-94. In L. C. vining (ed.), *Biochemistry and Genetic Regulation of Commercially Important Antibiotics*. Addison Wesley Publishing Co., Inc., Reading, Mass.
- Palk, J., I. Kern, R. Lurz, and R. Hakenbeck. 1999. Mutational analysis of the *Streptococcus pneumoniae* bimodular class A penicillin-binding proteins. *J. Bacteriol.* **181**:3852-3856.

- Pallen, M. J., A. C. Lam, M. Antonio, and K. Dunbar. 2001. An embarrassment of sortases—a richness of substrates? *Trends Microbiol.* 9:97-102.
- Palumbi, S. R. 2001. Humans as the world's greatest evolutionary force. *Science* 293:1786-1790.
- Pan, X. S., and M. Fisher. 1997. Targeting of DNA gyrase in *Streptococcus pneumoniae* by sparfloxacin: selective targeting of gyrase or topoisomerase IV by quinolones. *Antimicrob. Agents Chemother.* 41:471-474.
- Pares, S., N. Mouz, Y. Petillot, R. Hakenbeck, and O. Dideberg. 1996. X-ray structure of *Streptococcus pneumoniae* PBP2x, a primary penicillin target enzyme. *Nat. struct. Biol.* 3:284-289.
- Park, I. S., C. H. Lin, and C. T. Walsh. 1997. Bacterial resistance to vancomycin: overproduction, purification, and characterization of VanC2 from *Enterococcus casseliflavus* as D-Ala-D-Ser ligase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94:10040-10044.
- Parkhill, J., G. Dougan, K. D. James, N. R. Thomson, D. Pickard, J. Wain, C. Churcher, K. L. Mungall, S. D. Bentley, M. T. Holden, M. Sebaihia, S. Baker, D. Basham, K. Brooks, T. Chillingworth, P. Connor, A. Cronin, P. Davis, R. M. Davies, L. Dowd, N. White, J. Farrar, T. Feltwell, N. Hamlin, A. Haque, T. T. Hien, S. Holroyd, K. Jagels, A. Krogh, T. S. Larsen, S. Leather, S. Moule, P. O'gaora, C. Parry, M. Quail, K. Rutherford, M. Simmonds, J. Skelton, K. Stevens, S. Whitehead, and B. G. Barrell. 2001. Complete genome sequence of a multiple drug resistant *Salmonella enterica* serovar Typhi CT18. *Nature* 413:848-852.
- Parris, K. D., L. Lin, A. Tam, R. Mathew, J. Hixon, M. Stahl, C. C. Fritz, J. Seehra, and W. S. Somers. 2000. Crystal structures of substrate binding to *Bacillus subtilis* holo-(acyl carrier protein) synthase reveal a novel trimeric arrangement of molecules resulting in three active sites. *Structure Fold Des.* 8:883-895.
- Patel, H. M., and C. T. Walsh. 2001. In vitro reconstitution of the *Pseudomonas aeruginosa* nonribosomal peptide synthesis of pyochelin: characterization of back bone tailoring thiazoline reductase and N-methyltransferase activities. *Biochemistry* 40:9023-9031.
- Patel, U., Y. P. Yan, F. W. Hobbs, Jr., J. Kaczmarek, A. M. Slee, D. L. Pomiliano, M. G. Kurilla, and E. V. Bobkova. 2001. Oxazolidinones mechanism of action: inhibition of the first peptide bond formation. *J. Biol. Chem.* 276:37199-37205.
- Paulsen, I. T., M. H. Brown, and R. A. Skurray. 1996. Proton-dependent multidrug efflux systems. *Microbial. Rev.* 60:575-608.
- Payne, D. J., J. A. Hueso-Rodriguez, H. Boyd, N. O. Concha, C. A. Janson, M. Gilpin, J. H. Bateson, C. Cheever, N. L. Niconovich, S. Pearson, S. Rittenhouse, D. Tew, E. Diez, P. Perez, J. De La Fuente, M. Rees, and A. Rivera-Sagredo. 2002. Identification of a series of tricyclic natural products as potent broad-spectrum inhibitors of metallo-beta-lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46:1880-1886.
- Perego, M., and J. A. Hoch. 2001. Functional Genomics of Gram-Positive Microorganisms: review of the meeting, San Diego, California, 24 to 28 June 2001. *J. Bacteriol.* 183:6973-6978.
- Perna, N. T., G. Plunkett III, V. Burland, B. Mau, J. D. Glasner, D. J. Rose, G. F. Mayhew, P. S. Evans, J. Gregor, H. A. Kirkpatrick, G. Posfai, J. Hackett, S. Klink, A.

- Boutin, Y. Shao, L. Miller, E. J. Grotbeck, N. W. Davis, A. Lim, E. T. Dimalanta, K. D. Potamou, J. Apodaca, T. S. Anantharaman, J. Lin, G. Yen, D. C. Schwartz, R. A. Welch, and F. R. Blattner. 2001. Genome sequence of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *Nature* 409:529-533.
- Perry, R. D., and J. D. Fetherston. 1997. Yersinia pestis—etiologic agent of plague. *Clin. Microbiol. Rev.* 10:35-66.
- Persson, C., N. Carballeira, H. Wolf-Watz, and M. Fallman. 1997. The PTPase YopH inhibits uptake of Yersinia, tyrosine phosphorylation of p130Cas and FAK, and the associated accumulation of these proteins in peripheral focal adhesions. *EMBO J.* 16:2307-2318.
- Petkovic, H., A. Thamchaipenet, L. H. Zhou, D. Hranueli, P. Raspor, P. G. Waterman, and I. S. Hunter. 1999. Disruption of an aromatase/cyclase from oxytetracycline gene cluster of *Streptomyces rimosus* results in production of novel polyketides with shorter chain lengths. *J. Biol. Chem.* 274:32829-32834.
- Piepersberg, W. 1997. Molecular biology, biochemistry and fermentation of aminoglycoside antibiotics, p. 842. In W. R. Strohl (ed.), *Biotechnology of Antibiotics*, 2<sup>nd</sup> ed. Marcel Dekker Inc., New York, N.Y.
- Pioletti, M., F. Schlunzen, J. Harms, R. Zarivach, M. Gluhmann, H. Avila, A. Bashan, H. Bartels, T. Auerbach, C. Jacobi, T. Hartsch, A. Yonath, and F. Franceschi. 2001. Crystal structures of complexes of the small ribosomal subunit with tetracycline, edeine and IF3. *EMBO J.* 20:1829-1839.
- Poole, K. 2001. Overcoming antimicrobial resistance by targeting resistance mechanisms. *J. Pharm. Pharmacol.* 53:283-294.
- Pootoolal, J., M. G. Thomas, C. G. Marshall, J. M. Neu, B. K. Hubbard, C. T. Walsh, and G. D. Wright. 2002. Assembling the glycopeptides antibiotic scaffold: the biosynthesis of A47934 from *Streptomyces topocaensis* NRRL15009. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99:8962-8967.
- Poulsen, S. M., C. Kofoed, and B. Vester. 2000. Inhibition of the ribosomal peptidyl transferase reaction by the mycarose moiety of the antibiotics carbomycin, spiramycin and tylosin. *J. Mol. Biol.* 304:471-481.
- Poulsen, S. M., M. Karlsson, L. B. Johansson, and B. Vester. 2001. The pleuromutilin drugs tiamulin and valnemulin bind to the RNA at the peptidyl transferase centre on the ribosome. *Mol. Microbiol.* 41:1091-1099.
- Prasch, T., T. Naumann, R. L. Markert, M. Sattler, W. Schubert, S. Schaal, M. Bauch, H. Kogler, and C. Griesinger. 1997. Constitution and solution conformation of the antibiotic mersacidin determined by NMR and molecular dynamics. *Eur. J. Biochem.* 244:501-512.
- Prente, J. L., and B. Finlay. 2001. Pathogenesis *E. coli*, p. 388-422. In E. A. Groisman (ed.), *Principles of Bacterial Pathogenesis*. Academic Press Inc., San Diego, California.
- Pucci, M. J., and T. J. Dougherty. 2002. Direct quantitation of the numbers of individual penicillin-binding proteins per cell in *Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol.* 184:588-591.
- Puech, V., N. Bayan, K. Salim, G. Leblon, and M. Daffe. 2000. Characterization of the in vivo acceptors of the mycoloyl residues transferred by the corynebacterial PS1 and the related mycobacterial antigens 85. *Mol. Microbiol.* 35:1026-1041.
- Putman, M., H. W. van Veen, and W. N. Konings. 2000. Molecular properties of bacterial multidrug transporters. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 64:672-693.

- Qui, X., C. A. Janson, W. W. Smith, S. M. Green, P. McDevitt, K. Johanson, P. Carter, M. Hibbs, C. Lewis, A. Chalker, A. Fosberry, J. Lalonde, J. Berge, P. Brown, C. S. Houge-Frydrych, and R. L. Jarvest. 2001. Crystal structure of *Staphylococcus aureus* tyrosyl-tRNA synthetase in complex with a class of potent and specific inhibitors. *Protein Sci.* 10:2008-2016.
- Que, L., Jr. 2000. One motif—many different reactions. *Nat. Struct. Biol.* 7:182-184.
- Quiros, I. M., I. Aguirrezabalaga, C. Olano, C. Mendez, and J. A. Salas. 1998. Two glycosyltransferases and a glycosidase are involved in oleandomycin modification during its biosynthesis by *Streptomyces antibioticus*. *Mol. Microbiol.* 28:1177-1185.
- Raetz, C. 1987. Structure and biosynthesis of lipid A in *E. coli*, p. 498-503. In F. C. Neidhart (ed.), *Escherichia coli and Salmonella typhimurium: Cellular and Molecular Biology*. ASM Press, Washington, D.C.
- Rajagopalan, P. T., A. Datta, and D. Pei. 1997. Purification, characterization, and inhibition of peptide deformylase from *Escherichia coli*. *Biochemistry* 36:13910-13918.
- Rasmussen, B. A., and K. Bush. 1997. Carbapenem-hydrolyzing beta-lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother.* 41:223-232.
- Raviv, Y., H. B. Pollard, E. P. Bruggemann, I. Pastan, and M. M. Gottesman. 1990. Photosensitized labeling of a functional multidrug transporter in living drug resistant tumors cells. *J. Biol. Chem.* 265:3975-3980.
- Rawlings, B. J. 1999. Biosynthesis of polyketides (other than actinomycete macrolides). *Nat. Prod. Rep.* 16:425-484.
- Rawlings, B. J. 2001a. type I polyketide biosynthesis in bacteria (part A—erythromycin biosynthesis). *Nat. Prod. Rep.* 18:190-227.
- Rawlings, B. J. 2001b. type I polyketide biosynthesis in bacteria (part B). *Nat. Prod. Rep.* 18:231-281.
- Reid, S. D., N. M. Green, J. K. Buss, B. Lei, and J. M. Musser. 2001. Multilocus analysis of extracellular putative virulence proteins made by group A streptococcus: population genetics, human serologic response, and gene transcription. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98:7552-7557.
- Reuter, K., M. R. Mofid, M. A. Marahiel, and R. Ficner. 1999. Crystal structure of the surfacing synthetase-activating enzyme sfp: a prototype of the 4' -phosphopantetheinyl transferase superfamily. *EMBO J.* 18:6823-6831.
- Ritter, T. K., and C. H. Wong. 2001. Carbohydrate-based antibiotics: a new approach to tackling the problem of resistance. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 40:3508-3533.
- Roach, P. L., I. J. Clifton, C. M. Hengens, N. Shibata, C. J. Schofield, J. Hajdu, and J. E. Baldwin. 1997. Structure of isopenicillin N synthase complexed with substrate and the mechanism of penicillin formation. *Nature* 387:827-830.
- Robinson, V. L., and A. M. Stock. 1999. High energy exchange: proteins that make or break phosphoramidate bonds. *Structure Fold. Des.* 7:R47-R53.
- Rodnina, M. V., and W. Wintermeyer. 2001. Ribosome fidelity: tRNA discrimination, proofreading and induced fit. *Trends Biochem. Sci.* 26:124-130.
- Rodrigue, A., Y. Quentin, A. Lazdunski, V. Mejean, and M. Foglino. 2000. Two component systems in *Pseudomonas aeruginosa*: why so many? *Trends Microbiol.* 8:498-504.

- Rodriguez, E., and R. McDaniel.** 2001. Combinatorial biosynthesis of antimicrobials and other natural products. *Curr. Opin. Microbiol.* 4:526-534.
- Roestamadji, J., I. Grapsas, and S. Mobashery.** 1995. Mechanism-based inactivation of bacterial aminoglycoside 3' -phosphotransferases. *J. Am. Chem. Soc.* 117:80-84.
- Rohdich, F., K. Kis, A. Bacher, and W. Eisenreich.** 2001. The non-mevalonate pathway of isoprenoids: genes, enzymes and intermediates. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 5:535-540.
- Roper, D. I., T. Huyton, A. Vagin, and G. Dodson.** 2000. The molecular basis of vancomycin resistance in clinically relevant enterococci: crystal structure of D-alanyl-D-lactate ligase (VanA). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:8921-8925.
- Rosamond, J., and A. Allsop.** 2000. Harnessing the power of the genome in the search for new antibiotics. *Science* 287:1973-1976.
- Rosen, H., R. Hajdu, L. Silver, H. Kropp, K. Dorso, J. Kohler, J. G. Sundelof, J. Huber, G. G. Hammond, J. J. Jackson, C. J. Gill, R. Thompson, B. A. Pelak, J. H. Epstein-Toney, G. Lankas, R. R. Wilkening, K. J. Wildonger, T. A. Blizzard, F. P. DiNinno, R. W. Ratcliffe, J. V. Heck, J. V. Heck, J. W. Kozarich, and M. L. Hammond.** 1999. Reduced immunotoxicity and preservation of antibacterial activity in a releasable side-chain carbapenem antibiotic. *Science* 283:703-706.
- Rowe, C. J., I. U. Bohn, I. P. Thomas, B. Wilkinson, B. A. Rudd, G. Foster, A. P. Blackaby, P. J. Sidebottom, Y. Roddis, A. D. Buss, J. Staunton, and P. F. Leadlay.** 2001. Engineering a polyketide with a longer chain by insertion of an extra module into the erythromycin-producing polyketide synthase. *Chem. Biol.* 8:475-485.
- Rozwarski, D. A., G. A. Grant, D. H. Barton, W. R. Jacobs, Jr., and J. C. Sacchettini.** 1998. Modification of the NADH of the isoniazid target (InhA) from *Mycobacterium tuberculosis*. *Science* 279:98-102.
- Rudgers, G. W., W. Huang, and T. Palzkill.** 2001. Binding properties of a peptide derived from beta-lactamase inhibitory protein. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45:3279-3286.
- Russel, M.** 1998. Macromolecular assembly and secretion across the bacterial cell envelope: type II protein secretion systems. *J. Mol. Biol.* 279:485-499.
- Russell, A. D., and I. Chopra.** 1996. *Understanding Antibacterial Action and Resistance*, 2<sup>nd</sup> ed. Ellis Horwood, New York, N.Y.
- Sahl, H. G., and G. Bierbaum.** 1998. Lantibiotics: biosynthesis and biological activities of uniquely modified from gram-positive bacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* 52:41-79.
- Sahn, D. F., C. Thornsberry, D. C. Mayfield, M. E. Jones, and J. A. Karlowsky.** 2001. Multidrug-resistant urinary tract isolates of *Escherichia coli*: prevalence and patient demographics in the United States in 2000. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45:1402-1406.
- Saier, M. H., Jr., I. T. Paulsen, M. K. Sliwinski, S. S. Pao, R. A. Skurray, and H. Nikaido.** 1998. Evolutionary origins of multidrug and drug-specific efflux pumps in bacteria. *FASEB J.* 12:265-274.
- Sanders, D. A., A. G. Staines, S. A. McMahon, M. R. McNeil, C. Whitfield, and J. H. Nalsmith.** 2001. UDP-galactopyranose mutase has a novel structure and mechanism. *Nat. Struct. Biol.* 8:858-863.

- Sansonetti, P., C. Egile, and C. Wenneras.** 2001. Shigellosis: from disease symptoms to molecular and cellular pathogenesis, p. 336-387. In E. A. Groisman (ed.), *Principles of bacterial Pathogenesis*. Academic Press Inc., San Diego, California
- Sathyamoorthy, N., and K. Takayama.** 1987. Purification and characterization of a novel mucolic acid exchange enzyme from *Mycobacterium smegmatis*. *J. Biol. Chem.* **262**:13417-13423.
- Schauder, S., and B. L. Bassler.** 2001. The languages of bacteria. *Genes Dev.* **15**:1468-1480.
- Schauder, S., K. Shokat, M. G. Surette, and B. L. Bassler.** 2001. The LuxS family of bacterial autoinducers: biosynthesis of a novel quorum-sensing signal molecule. *Mol. Microbiol.* **41**:463-476.
- Schentag, J. J., J. M. Hyatt, J. R. Carr, J. A. Paladino, M. C. Birmingham, G. S. Zimmer, and T. J. Cumbo.** 1998. Genesis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), how treatment of MRSA infections has selected for vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*, and the importance of antibiotic management and infection control. *Clin. Infect. Dis.* **26**:1204-1214.
- Schiffer, G., and J. V. Holtje.** 1999. Cloning and characterization of PBP 1C, a third member of the multimodular class A penicillin-binding proteins of *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* **274**:32031-32039.
- Schlunzen, F., R. Zarivach, J. Harms, A. Bashan, A. Tocilj, R. Albrecht, A. Yonath, and F. Franceschi.** 2001. Structural basis for the interaction of antibiotics with the peptidyl transferase centre in eubacteria. *Nature* **413**:814-821.
- Schmitz, F. J., A. C. Fluit, D. Milatovic, J. Verhoef, H. P. Heinz, and S. Brisse.** 2000. In vitro potency of moxifloxacin, clinafloxacin and sitafloxacin against 248 genetically defined clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *J. Antimicrob. Chemother.* **46**:109-113.
- Scholar, E. M., and W. B. Pratt.** 2000. *The Antimicrobial Drugs*, 2<sup>nd</sup> ed. Oxford University Press, New York, N.Y.
- Schonbrunn, E., S. Sack, S. Eschenburg, A. Perrakis, F. Krekel, N. Amrhein, and E. Mandelkow.** 1996. Crystal structure of UDP-N-acetylglucosamine enolpyruvyl-transferase, the target of the antibiotic fosfomycin. *Structure* **4**:1065-1075.
- Schreiber, S. L.** 2000. Target-oriented and diversity-oriented organic synthesis in drug discovery. *Science* **287**:1964-1969.
- Schwartz, B., J. A. Markwalder, and Y. Wang.** 2001. Lipid II: total synthesis of the bacterial cell wall precursor and utilization as a substrate for glycosyltransfer and transpeptidation by penicillin binding protein (PBP) 1b of *Escherichia coli*. *J. Am. Chem. Soc.* **123**:11638-11643.
- Selinsky, B. S., K. Gupta, C. T. Sharkey, and P. J. Loll.** 2001. Structural analysis of NSAID binding by prostaglandin H2 synthase: time-dependent and time-independent inhibitors elicit identical enzyme conformations. *Biochemistry* **40**:5172-5180.
- Seppala, H., T. Klaukka, J. Vuopio-Varkila, A. Muotiala, H. Helenius, K. Lager, and P. Huovinen.** 1997. The effect of changes in the consumption of macrolide antibiotics on erythromycin resistance in group A streptococci in Finland. Finnish Study Group for Antimicrobial Resistance. *N. Engl. J. Med.* **337**:441-446.

- Seto, H.** 1999. Biosynthesis of the natural C-P compounds, Bialaphos and fosfomycin, p. 865-880. In D. Barton, K. Nakanishi, and O. Meth-Cohn (ed.), *Comprehensive Natural Products Chemistry*, vol. 1. Pergamon Press, Inc., Elmsford, N.Y.
- Shaw, J. P., G. A. Petsko, and D. Ringe.** 1997. Determination of the structure of alanine racemase from *Bacillus stearothermophilus* at 1.9-Å resolution. *Biochemistry* **36**:1329-1342.
- Sheldon, P. J., D. A. Johnson, P. R. August, H. W. Liu, and D. H. Sherman.** 1997. Characterization of a mitomycin-binding drug resistance mechanism from the producing organism, *Streptomyces lavendulae*. *J. Bacteriol.* **179**:1796-1804.
- Shen, B.** 2000. Biosynthesis of aromatic polyketides. *Top. Curr. Chem.* **209**:1-51.
- Shi, Y., and C. T. Walsh.** 1995. Active site mapping of *Escherichia coli* D-Ala-D-Ala ligase by structure-based mutagenesis. *Biochemistry* **34**:2768-2776.
- Shlaes, D. M., D. N. Gerding, J. F. John, Jr., W. A. Craig, D. L. Bornstein, R. A. Duncan, M. R. Eckman, W. E. Farrer, W. H. Greene, V. Lorian, S. Levy, J. E. McGowan, Jr., S. M. Paul, J. Ruskin, F. C. Tenover, and C. Watanakunakorn.** 1997a. Society for Healthcare Epidemiology of America and Infectious Diseases Society of America Joint Committee on the Prevention of Antimicrobial Resistance: guidelines for the prevention of antimicrobial resistance in hospitals. *Clin. Infect. Dis.* **25**:584-599.
- Shlaes, D. M., D. N. Gerding, J. F. John, Jr., W. A. Craig, D. L. Bornstein, R. A. Duncan, M. R. Eckman, W. E. Farrer, W. H. Greene, V. Lorian, S. Levy, J. E. McGowan, Jr., S. M. Paul, J. Ruskin, F. C. Tenover, and C. Watanakunakorn.** 1997b. Society for Healthcare Epidemiology of America and Infectious Diseases Society of America Joint Committee on the Prevention of Antimicrobial Resistance: guidelines for the prevention of antimicrobial resistance in hospitals. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* **18**:275-291.
- Silvian, L. F., J. Wang, and T. A. Steitz.** 1999. Insights into editing from an IleRNA synthetase structure with tRNA<sup>Ile</sup> and mupirocin. *Science* **285**:1074-1077.
- Sinha Roy, R., A. M. Gehring, J. C. Milne, p. J. Belshaw, and C. T. Walsh.** 1999. Thiazole and oxazole peptides: biosynthesis and molecular machinery. *Nat. Prod. Rep.* **16**:249-263.
- Sinha Roy, R., P. Yang, S. Kodali, Y. Xiong, R. M. Kim, P. R. Griffin, H. R. Onishi, J. Kohler, L. L. Silver, and K. Chapman.** 2001. Direct interaction of a vancomycin derivative with bacterial enzymes involved in cell wall biosynthesis. *Chem. Biol.* **8**:1095-1106.
- Skarzynski, T., A. Mistry, A. Wonacott, S. E. Hutchinson, V. A. Kelly, and K. Duncan.** 1996. Structure of UDP-N-acetylglucosamine enolpyruvyl transferase, an enzyme essential for the synthesis of bacterial peptidoglycan, complexed with substrate UDP-N-acetylglucosamine and the drug fosfomycin. *Structure* **4**:1465-1474.
- Skarzynski, T., D. H. Kim, W. J. Lees, C. T. Walsh, and K. Duncan.** 1998. Stereochemical course of enzymatic enolpyruvyl transfer and catalytic conformation of the active site revealed by the crystal structure of the fluorinated analogue of the reaction tetrahedral intermediate bound to the active site of the C115A mutant of murA. *Biochemistry* **37**:2572-2577.
- Solenberg, P. J., P. Matsushima, D. R. Stack, S. C. Wilkie, R. C. Thompson, and R. H. Baltz.** 1997. Production of hybrid glycopeptides antibiotics in vitro and in *Streptomyces toyocaensis*. *Chem. Biol.* **4**:195-202.

- Soltani, M., D. Beighton, J. Philpott-Howard, and N. Woodford. 2001. Identification of vat(E-3), a novel gene encoding resistance to quinupristin-dalfopristin in a strain of *Enterococcus faecium* from a hospital patient in the United Kingdom. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45:645-646.
- Sosio, M., A. Bianchi, E. Bossi, and S. Donadio. 2000. Teicoplanin biosynthesis genes in *Actinoplanes teichomyceticus*. *Antonie Leeuwenhoek* 78:379-384.
- Spahn, C. M., G. Blaha, R. K. Agrawal, P. Penczek, R. A. Grassucci, C. A. Trieber, S. R. Connell, D. E. Taylor, K. H. Nierhaus, and J. Frank. 2001. Localization of the ribosomal protection protein Tet(O) on the ribosome and the mechanism of tetracycline resistance. *Mol. Cell.* 7:1037-1045.
- Spratt, B. G. 1977. Properties of the penicillin-binding proteins of *Escherichia coli* K12. *Eur. J. Biochem.* 72:341-352.
- Spratt, B. G. 1994. Resistance to antibiotics mediated by target alterations. *Science* 264:388-393.
- Stachelhaus, T., H. D. Mootz, and M. A. Marahiel. 1999. The specificity-conferring code of adenylation domains in nonribosomal peptide synthetases. *Chem. Biol.* 6:493-505.
- Stamm, W. E. 2001. An epidemic of urinary tract infections? *N. Engl. J. Med.* 345:1055-1057.
- Stebbins, C. E., and J. E. Galan. 2000. Modulation of host signaling by a bacterial mimic: structure of the *Salmonella* effector SptP bound to Rac1. *Mol. Cell* 6:1449-1460.
- Stein, T., S. Borchert, p. Kiesau, S. heinzmann, S. Kloss, C. Klein, M. Helfrich, and K. D. Entian. 2002. Dual control of subtilin biosynthesis and immunity in *Bacillus subtilis*. *Mol. Microbiol.* 44:403-416.
- Stephenson, K., Y. Yamaguchi, and J. A. Hoch. 2000. The mechanism of action of inhibitors of bacterial two-component signal transduction systems. *J. Biol. Chem.* 275:38900-38904.
- Stermitz, F. R., P. Lorenz, J. N. Tawara, L. A. Zenewicz, and K. Lewis. 2000. Synergy in a medicinal plant: antimicrobial action of berberine potentiated by 5' - methoxyhydnocarpin, a multidrug pump inhibitor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:1433-1437.
- Stover, C. K., X. Q. Pham, A. I. Erwin, S. D. Mizoguchi, P. Warrenner, M. J. Hickey, F. S. Brinkman, W. O. hufnagle, D. J. Kowalik, M. lagrou, R. I. Garber, I. Goltry, E. Tolentino, S. Westbrook-Wadman, Y. Yuan, I. L. Brody, S. N. Coulter, K. R. Folger, A. Kas, K. Larbig, R. Lim, K. Smith, D. Spencer, G. K. Wong, Z. Wu, I. T. Paulsen, J. Reizer, M. H. Saier, R. E. Hancock, S. Lory, and M. V. Olson. 2000. Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PA01, an opportunistic pathogen. *Nature* 406:959-964.
- Stratigopoulos, G., and E. Cundliffe. 2002. Expression analysis of the tylosinbiosynthetic gene cluster. Pivotal regulatory role of the tylQ product. *Chem.. Biol.* 9:71-78.
- Strohl, W. R. 2001. Biochemical engineering of natural product biosynthesis pathways. *Metab. Eng.* 3:4-14.
- Strynadka, N. C., S. E. Jensen, P. M. Alzari, and M. N. James. 1996. A potent new mode of beta-lactamase inhibition revealed by the 1.7 Å X-ray crystallographic structure of the TEM-1-BLIP complex. *Nat. Struct. Biol.* 3:290-297.



- Suheck, S. J., and C. H. Wong. 2000. RNA as a target for small molecules. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 4:678-686.
- Sugantino, M., and S. L. Roderick. 2002. Crystal structure of Vat(D): an acetyltransferase that inactivates streptogramin group A antibiotics. *Biochemistry* 41:2209-2216.
- Sun, B., Z. Chen, U. S. Eggert, S. J. Shaw, J. V. LaTour, and D. Kahne. 2001. Hybrid glycopeptides antibiotics. *J. Am. Chem. Soc.* 123:12722-12723.
- Sutcliffe, J. A. 1988. Novel approaches toward discovery of antibacterial agents. *Annu. Rep. Med. Chem.* 23:141-150.
- Swift, S., J. P. Throup, P. Williams, G. P. Salmond, and G. S. Stewart. 1996. Quorum sensing: a population-density component in the determination of bacterial phenotype. *Trends Biochem. Sci.* 21:214-219.
- Takano, E., T. Nihira, Y. Hara, J. J. Jones, C. J. Gershater, Y. Yamada, and M. Bibb. 2000. Purification and structural determination of SCB1, a gamma-butyrolactone that elicits antibiotic production in *Streptomyces coelicolor* A3(2). *J. Biol. Chem.* 275:11010-11016.
- Takei, M., H. Fukuda, R. Kishii, and M. Hosaka. 2001. Target preference of 15 quinolones against *Staphylococcus aureus*, based on antibacterial activities and target inhibition. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45:3544-3547.
- Tally, F. P., and M. F. DeBruin. 2000. Development of daptomycin for gram-positive infections. *J. Antimicrob. Chemother.* 46:523-526.
- Tan, D. S., M. A. Foley, M. D. Shair, and S. L. Schreiber. 1998. Stereoselective synthesis of over two million compounds having structural features both reminiscent of natural products and compatible with miniaturized cell-based assays. *J. Am. Chem. Soc.* 120:8565-8566.
- Tan, D. S., M. A. Foley, B. R. Stockwell, M. D. Shair, and S. L. Schreiber. 1999. Synthesis and preliminary evaluation of a library of polycyclic small molecules for use in chemical genetic assays. *J. Am. Chem. Soc.* 121:9073-9087.
- Tang, L., and R. McDaniel. 2001. Construction of desosamine containing polyketide libraries using a glycosyltransferase with broad substrate specificity. *Chem. Biol.* 8:547-555.
- Tanner, N. K., and P. Linder. 2001. DEXD/H box RNA helicases: from generic motors to specific dissociation functions. *Mol. Cell* 8:251-262.
- Teichmann, S. A., A. G. Murzin, and C. Chothia. 2001. Determination of protein function, evolution and interactions by structural genomics. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 11:354-363.
- Tettelin, H., K. E. Nelson, I. T. Paulsen, J. A. Eisen, T. D. Read, S. Peterson, J. Heidelberg, R. T. DeBoy, D. H. Haft, R. J. Dodson, A. S. Durkin, M. Gwinn, J. F. Kolonay, W. C. Nelson, J. D. Peterson, L. A. Umayam, O. White, S. L. Salzberg, M. R. Lewis, D. Radune, E. Holtzapple, H. Khouri, A. M. Wolf, T. R. Utterback, C. L. Hansen, L. A. McDonald, T. V. Feldblyum, S. Angiuoli, T. Dickinson, E. K. Hickey, I. E. Holt, B. J. Loftus, F. Yang, H. O. Smith, J. C. Venter, B. A. Dougherty, D. A. Morrison, S. K. Hollinghead, and C. M. Fraser. 2001. Complete genome sequence of a virulent isolate of *Streptococcus pneumoniae*. *Science* 293:498-506.

- Thomas, M. G., M. D. Burkart, and C. T. Walsh. 2002. Conversion of L-proline to pyrrolyl-2-carboxyl-S-PCP during undercylprodigiosin and pyoluteorin biosynthesis. *Chem. Biol.* 9:171-184.
- Thomson, K. S., and E. S. Moland. 2000. Version 2000: the new beta-lactamases of gram-negative bacteria at the dawn of the new millennium. *Microbes Infect.* 2:1225-1235.
- Thorson, J. S., T. J. Hosted, J. Q. Jiang, J. B. Biggins, and J. Ahlert. 2001. Nature's carbohydrate chemists: the enzymatic glycosylation of bioactive bacterial metabolites. *Curr. Org. Chem.* 5:139-167.
- Threlfall, E. J. 2000. Epidemic *Salmonella typhimurium* DT 104—a truly international multiresistant clone. *J. Antimicrob. Chemother.* 46:7-10.
- Throup, J. P., K. K. Koretke, A. P. Brnt, K. A. Ingraham, A. F. Chalker, Y. Ge, A. Marra, N. G. Wallis, J. R. Brown, D. J. Holmes, M. Rosenberg, and M. K. Burnham. 2000. A genomic analysis of two-components signal transduction in *Streptococcus pneumoniae*. *Mol. Microbiol.* 35:566-576.
- Throup, J. P., F. Zappacosta, R. D. Lunsford, R. S. Annan, S. A. Carr, J. T. Lonsdale, A. P. Bryant, D. McDevitt, M. Rosenberg, and M. K. Burnham. 2001. The *srhSR* gene pair from *Staphylococcus aureus*: genomic and proteomic approaches to the identification and characterization of gene function. *Biochemistry* 40:10392-10401.
- Toney, J. H., P. M. Fitzgerald, N. Grover-Sharma, S. H. Olson, W. J. May, J. G. Sundelof, D. E. Vanderwall, K. A. Cleary, S. K. Grant, J. K. Wu, J. W. Kozarich, D. L. Pompliano, and G. G. Hammond. 1998. Antibiotic sensitization using biphenyltetrazoles as potent inhibitors of *Bacteroides fragilis* metallo-beta-lactamase. *Chem. Biol.* 5:185-196.
- Ton-That, H., G. Liu, S. K. Mazmanian, K. F. Faull, and O. Schneewind. 1999. Purification and characterization of sortase, the transpeptidase that cleaves surface proteins of *Staphylococcus aureus* at the LPXTG motif. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96:12424-12429.
- Trauger, J. W., R. M. Kohli, H. D. Mootz, M. A. Marahiel, and C. T. Walsh. 2000. Peptide cyclization catalysed by the thioesterase domain of tyrocidine synthetase. *Nature* 407:215218.
- Trauger, J. W., and C. T. Walsh. 2000. Heterologous expression in *Escherichia coli* of the first module of the nonribosomal peptide synthetase for chloroeremomycin, a vancomycin-type glycopeptides antibiotic. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:3112-3117.
- Trias, J. 2001. The role of combichem in antibiotic discovery. *Curr. Opin. Microbiol.* 4:520-525.
- Trias, J., and Z. Yuan. 1999. Mining bacterial cell wall biosynthesis with new tools: multitarget screens. *Drug Resist. Update* 2:358-362.
- Tsai, F. T., O. M. Singh, T. Skarzynski, A. J. Wonacott, S. Weston, A. Tucker, R. A. Paupit, A. L. Breeze, J. P. Poyser, R. O'Brien, J. E. Ladbury, and D. B. Wigley. 1997. The high-resolution crystal structure of a 24-kDa gyrase B fragment from *E. coli* complexed with one of the most potent coumarin inhibitors, clorobiocin. *Proteins* 28:41-52.
- Valegard, K., A. C. van Scheltinga, M. D. Lloyd, T. Hara, S. Ramaswamy, A. Perrakis, A. Thompson, H. J. Lee, J. E. Baldwin, C. J. Schofield, J. hajdu, and I. Anderson. 1998. Structure of a cephalosporin synthase. *Nature* 394:805-809.
- van Asselt, E. J., K. H. Kalk, and B. W. Dijkstra. 2000. Crystallographic studies of the interactions of *Escherichia coli* lytic transglycosylase Slt35 with peptidoglycan. *Biochemistry* 39:1924-1934.

- van Heijenoort, J. 2001a. Formation of the glycan chains in the synthesis of bacterial peptidoglycan. *Glycobiology* 11:25R-36R.
- van Heijenoort, J. 2001b. Recent advances in the formation of the bacterial peptidoglycan monomer unit. *Nat. Prod. Rep.* 18:503-519.
- VanNieuwenhze, M. S., S. C. Mauldin, M. Zia-Ebrahimi, B. E. Winger, W. J. Hornback, S. L. Saha, J. A. Aikins, and L. C. Blaszcak. 2002. The first total synthesis of lipid II: the final monomeric intermediate in bacterial cell wall biosynthesis. *J. Am. Chem. Soc.* 124:3656-3660.
- van Wageningen, A. M., P. N. Kirkpatrick, D. H. Williams, B. R. Harris, J. K. Kershaw, N. J. Lennard, M. Jones, S. J. Jones, and P. J. Solenberg. 1998. Sequencing and analysis of genes involved in the biosynthesis of a vancomycin group antibiotic. *Chem. Biol.* 5:155-162.
- Vester, B., and S. Douthwaite. 2001. Macrolide resistance conferred by base substitutions in 23S rRNA. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45:1-12.
- Vining, L. C., and C. Stutterd. 1995. Chloramphenicol. *Biotechnology* 28:505-530.
- Vollmer, W., and J. V. Holtje. 2000. A simple screen for murein transglycosylase inhibitors. *Antimicrob. Agents Chemother.* 44:1181-1185.
- von Dohren, H., U. Keller, J. Vater, and R. Zocher. 1997. Multifunctional peptide synthetases. *Chem., Rev.* 97:2675-2706.
- Walsh, C. 1979. *Enzymatic Reaction Mechanisms*. W. H. Freeman & Co., San Francisco, Calif.
- Walsh, C. T. 1988. Enzymes in the D-alanine branch of bacterial cell wall peptidoglycan assembly. *J. Biol. Chem.* 264:2393-2396.
- Walsh, C. T., T. E. Benson, D. H. Kim, and W. J. Lees. 1996a. the versatility of phosphoenolpyruvate and its vinyl ether products in biosynthesis. *Chem., Biol.* 3:83-91.
- Walsh, C. T., S. L. Fisher, I. S. park, M. Prahalad, and Z. Wu. 1996b. bacterial resistance to vancomycin: five genes and one missing hydrogen bond tell the story. *Chem. Biol.* 3:21-28.
- Wang, J. C. 1996. DNA topoisomerases. *Annu. Rev. Biochem.* 65:635-692.
- Wang, Z., W. Fast, A. M. Valentine, and S. J. Benkovic. 1999. Metallo-beta-lactamase: structure and mechanism. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 3:614-622.
- Watson, W. T., T. D. Minogue, D. L. Val, S. B. von Bodman, and M. E. Churchill. 2002. Structural basis and specificity of acyl-homoserine lactone signal production in bacterial quorum sensing. *Mol. Cell.* 9:685-694.
- Wenzel, R. P., and M. B. Edmond. 2000. Managing antibiotic resistance. *N. Engl. J. Med.* 343:1961-1963.
- Wess, G., M. Urmann, and B. Sickenberger. 2001. Medicinal chemistry: challenges and opportunities. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 40:3341-3350.
- White, D. G., S. Zhao, R. Sudler, S. Ayers, S. Friedman, S. Chen, P. F. McDermott, S. McDermott, D. W. Wagner, and J. Meng. 2001. The isolation of antibiotic resistant *Salmonella* from retail ground meats. *N. Engl. J. Med.* 345:1147-1154.

- Whittle, G., B. D. Hund, N. B. Shoemaker, and A. A. Salyers. 2001. Characterization of the 13-kilobase *crmF* region of the *Bacteroides* conjugative transposon CTnDOT. *Appl. Environ. Microbiol.* **67**:3488-3495.
- Wiedemann, B., C. Kliebe, and M. Kresken. 1989. The epidemiology of beta-lactamases. *J. Antimicrob. Chemother.* **24**(Suppl. B):1-22.
- Wilkinson, B., G. Foster, B. A. Rudd, N. L. Taylor, A. P. Blackaby, P. J. Sidebottom, D. J. Cooper, M. J. Dawson, A. D. Buss, S. Gaisser, I. U. Bohm, C. J. Rowe, J. Cortes, P. F. Leadlay, and J. Staunton. 2000. Novel octaketide macrolides related to 6-deoxyerythronolide B provide evidence for iterative operation of the erythromycin polyketide synthase. *Chem. Biol.* **7**:111-117.
- Williams, D. H. 1996. The glycopeptides story—how to kill the deadly “superbugs.” *Nat. Prod. Rep.* **13**:469-477.
- Williams, D. H., and B. Bardsley. 1999. The vancomycin group of antibiotics and the fight against resistant bacteria. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **38**:1172-1193.
- Williams, R. J., and D. I. Heymann. 1998. Containment of antibiotic resistance. *Science* **279**:1153-1154.
- Wilson, M., J. DeRisi, H. H. Kristensen, P. Imboden, S. Rane, P. O. Brown, and G. K. Schoolnik. 1999. Exploring drug-induced alterations in gene expression in *Mycobacterium tuberculosis* by microarray hybridization. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**:12833-12838.
- Wimberly, B. T., D. E. Brodersen, W. M. Clemons, Jr., R. J. Morgan-Warren, A. P. Carter, C. Vonrhein, T. Hartsch, and V. Ramakrishnan. 2000. Structure of the 30S ribosomal subunit. *Nature* **407**:327-339.
- Winzer, K., C. Falconer, N. C. Garber, S. P. Diggle, M. Camara, and P. Williams. 2000. The *Pseudomonas aeruginosa* lectins PA-IL and PA-III are controlled by quorum sensing and by RpoS. *J. Bacteriol.* **182**:6401-6411.
- Witte, W. 1998. Medical consequences of antibiotic use in agriculture. *Science* **279**:996-997.
- Wolfson, J. S., and D. C. Hooper. 1989. *Quinolone Antimicrobial Agents*. ASM Press, Washington, D.C.
- Wright, G. E. 1999. Aminoglycoside-modifying enzymes. *Curr. Opin. Microbiol.* **2**:499-503.
- Xu, G. Y., A. Tam, L. Lin, J. Hixon, C. C. Fritz, and R. Powers. 2001. Solution structure of *B. subtilis* acyl carrier protein. *Structure* **9**:277-287.
- Xue, Y., and D. A. Sherman. 2001. Biosynthesis and combinatorial biosynthesis of pikromycin-related macrolides in *Sterptomyces venezuelae*. *Metab. Eng.* **3**:15-26.
- Yamada, Y., and T. Nihara. 1999. Microbial hormones and microbial chemical ecology, p. 377-413. In D. Barton, K. Nakanishi, and O. Meth-Cohn (ed.), *Comprehensive Natural Products Chemistry*, vol. 8 Elsevier, Oxford, United Kingdom.
- Yano, H., A. Kuga, K. Iinoda, R. Okamoto, T. Kobayashi, and M. Inoue. 1999. Presence of genes for beta-lactamases of two different classes on a single plasmid from a clinical isolate of *Serratia marcescens*. *J. Antibiot.* **52**:1135-1139.

- Ye, X. Y., M. C. Lo, L. Brunner, D. Walker, D. Kahne, and S. Walker. 2001. Better substrates for bacterial transglycosylases. *J. Am. Chem. Soc.* **123**:3155-3156.
- Yin, C. C., M. L. Aldema-Ramos, M. I. Borges-Walmsley, R. W. Taylor, A. R. Walmsley, S. B. Levy, and P. A. Bullough. 2000. The quarternary molecular architecture of TetA, a secondary tetracycline transporter from *Escherichia coli*. *Mol. Microbiol.* **38**:482-492.
- Young, R., I. N. Wang, and W. D. Roof. 2000. Phages will out: strategies of host cell lysis. *Trends Microbiol.* **8**:120-128.
- Yusupov, M. M., G. Z. Yusupova, A. Baucom, K. Lieberman, T. N. Earnest, J. H. Cate, and H. F. Noller. 2001. Crystal structure of the ribosome at 5.5 Å resolution. *Science* **292**:883-896.
- Yusupova, G. Z., M. M. Yusupov, J. H. D. Cate, and H. F. Noller. 2001. The path of messenger RNA through the ribosome. *Cell* **106**:233-241.
- Zaslloff, M. 2002. Antimicrobial peptides of multicellular organism. *Nature* **415**:389-395.
- Zhang, H. Z., C. J. Hackbarth, K. M. Chansky, and H. F. Chambers. 2001. A proteolytic transmembrane signaling pathway and resistance to beta-lactams in staphylococci. *Science* **291**:1962-1965.
- Zhang, Y. X., K. Perry, V. A. Vinci, K. Powell, W. P. Stemmer, and S. B. del Cardayre. 2002. Genome shuffling leads to rapid phenotypic improvement in bacteria. *Nature* **415**:644-646.
- Zhang, Z., J. Ren, D. K. Stammers, J. E. Baldwin, K. Harlos, and C. J. Schofield. 2000. Structural origins of the selectivity of the trifunctional oxygenase clavaminic acid synthase. *Nat. Struct. Biol.* **7**:127-133.
- Zhao, L. S., J. Ahlert, Y. Q. Xue, J. S. Thorson, D. H. Sherman, and H. W. Liu. 1999. Engineering a methymycin/pikromycin-calicheamicin hybrid: construction of two new macrolides carrying a designed sugar moiety. *J. Am. Chem. Soc.* **121**:9881-9882.
- Zheleznova, E. E., P. N. Markham, A. A. Neyfakh, and R. G. Brennan. 1999. Structural basis of multidrug recognition by BmrR, a transcription activator of a multidrug transporter. *Cell* **96**:353-362.
- Zheleznova, E. E., P. Markham, R. Edgar, E. Bibi, A. A. Neyfakh, and R. G. Brennan. 2000. A structure-based mechanism for drug binding by multidrug transporters. *Trends Biochem. Sci.* **25**:39-43.
- Zimmermann, N., and G. Jung. 1997. The three-dimensional solution structure of the lantibiotic murein-biosynthesis-inhibitor actagardine determined by NMR. *Eur. J. Biochem.* **246**:809-819.



## ثبت المصطلحات

أولاً: عربي - إنجليزي

١

C<sub>55</sub> Undecaprenyl phosphopantetheinyl synthase

Epivancomycin

Fatty acids

Susceptibility testing

Ertapenem

*Erwinia carotovora*

Erythromycin

Aztreonam

Azithromycin

Quorum sensing

Acetyl-CoA

Acylhomoserine lactones

Animal foods

Cell membranes

secretion

Protein secretion

أنديكابرينيل فوسفوانتيثينيل سينثاز C<sub>55</sub>

إبيفانكوميسين

أحماض دهنية

إختبار الحساسية

إرتابينيم

إروينيا كاروتوفورا

إريثروميسين

أزتريونام

أزيتروميسين

إستشعار النصاب

أسيتيل-CoA

أسيل هوموسيرين لاكتونات

أعلاف (أغذية) الحيوانات

أغشية الخلية

إفراز

إفراز البروتين

avoparcin	أفوبارسين
Actinoplanes	أكتينوبلانيس
Actinorhodin	أكتينورودين
Actinonine	أكتينونين
Two-component-systems	الأجهزة (الأنظمة) المنظمة ذات - المركبين
Adenylation	الأدنلة (أدينيليشن)
Acetylation	الاستلة (أستيليشن)
<i>Eschericia coli</i>	الإشريكية القولونية
Biofilms	الأفلام الحيوية
Emerging infectious diseases	الأمراض البكتيرية الناشئة
L-aminoadeptyl-L-cysteiny-D-valine synthases	إل-أمينو أديبيل -إل-سيسيتينيل-د-فالين سينثازات
L-aminoadeptyl-L-cysteiny-L-valine	إل-أمينو أديبيل -إل-سيسيتينيل-إل-فالين
Van phenotypes	الأنماط الظاهرية Van
Alanine recemase	الآكين راسيماز
Hemolysin protein	البروتين الحال للدم
Acyl carrier protein	البروتين الحامل لأسيل
Beta -lactamsae inhibitor protein	البروتين المثبط لببتالكتاماز
Penicillin -binding proteins	البروتينات المرتبطة - بالبنسيلين
Gram-negative bacteria	البكتيريا السالبة - لغرام
Gram -positive bacteria	البكتيريا الموجبة - لغرام
biosynthesis	البناء الحيوي
Cell wall biosynthesis	البناء الحيوي لجدار الخلية
Protein biosynthesis	البناء الحيوي للبروتين
Antibiotic biosynthesis	البناء الحيوي للمضاد الحيوي
Mature autoinducing peptide	الببتيد المُحث الذاتي الناضج
Isomerization	التزامرية التشابكية



DNA	الحمض النووي - دنا
RNA	الحمض النووي الريبسي - رنا
Tuberculosis	الدرن (السل)
Lipid A	الدهن A
Cross linking	الربط التبادلي
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	الزائفة الزنجارية
Agriculture	الزراعة
<i>Shigella dysenteriae</i>	الشيغلا الزحارية
Small multidrug regulatory family	العائلة الصغيرة المتعددة الدواء المنظمة
Major facilitator subfamily	العائلة الفرعية الرئيسية المساعدة
Nosocomial infections	العداوى المستشفوية
<i>Bacteroides fragilis</i>	المصوانية الهشة
<i>Bacillus subtilis</i>	المعصية الرقيقة
Proton motive force	القوة الدافعة للبروتون
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	الكليبسيلا الرئوية
Combinational chemistry	الكيمياء الاندماجية (الاتحادية)
<i>Streptomyces</i>	المتسلسلة
<i>Streptomyces antibioticus</i>	المتسلسلة أنتيبوتيكس
<i>Streptomyces peucetius</i>	المتسلسلة بيوسيتيس
<i>Streptomyces tovoacaensis</i>	المتسلسلة توفوكانسيس
<i>Streptomyces fradiae</i>	المتسلسلة فرادي
<i>Streptomyces virginiae</i>	المتسلسلة فيرجيني
<i>Streptomyces virgulae</i>	المتسلسلة فينزويلي
<i>Streptomyces calvuligerus</i>	المتسلسلة كالفوريجيريس
<i>Streptomyces coelicolor</i>	المتسلسلة كوليكولر
<i>Streptomyces lavendulae</i>	المتسلسلة لافينديولي

<i>Streptomyces wedmorensis</i>	التسلسلة ويندمورينسيس
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	المتفطرة السلية
AI-2 quorum autoinducers	المخثات الذاتية للتصايب - AI-2
Calcium -dependent antibiotics	المضادات الحيوية - المعتمدة على - الكالسيوم
Antibiotics	المضادات الحيوية
Novel antibiotics	المضادات الحيوية الجديدة
New antibiotics	المضادات الحيوية الجديدة
<i>Clostridium perfringens</i>	المطثية العسيرة
Combination therapy	المعالجة التوليفية
Periplasmic space	الفراغ حول الجبلة
Multi-drug resistance	المقاومة المتعددة - الدواء
Enterococci	المكورات العقدية المعوية
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	المكورة العقدية الرئوية
<i>Streptococcus pyogenes</i>	المكورة العقدية القيحية
<i>Staphylococcus aureus</i>	المكورة العنقودية الذهبية
Evolution	النشوء (التطور)
Amoxicillin	أموكسيسيلين
Amoxicillin-sulbactam	أموكسيسيلين - سلبكتام
Amoxicillin-clavulanate	أموكسيسيلين - كلافلونيت
Imipenem	إمبينيم
<i>Amycolopsis orientalis</i>	أميكولتوسيس أوريينتاليس
Aminoglycosides	أمينوغليكوسيدات
Aminocourarins	أمينوكومارينات
Repair	إصلاح
Enterofloxacin	إنتيروفلوكساسين
Affinity	إنجذاب

Undecyle prodiogiosin  
synthase

GlmU enzyme

LpxC enzyme

MraY enzyme

Mur enzymes

Secretion systems

Targets

Bacterial targets

Ortavacin

Oxytetracycline

Oleandomycin

Epothiolone

Isopenicillin N

Isocitrate lyase

Isoniazid

Evernimomycin

أنديسيل بروديو-جوسين

إنزيم تركيبى-سيثاز

إنزيم GlmU

إنزيم LpxC

إنزيم MraY

إنزيمات Mur

أنظمة الإفراز

أهداف

أهداف بكتيرية

أورتافاسين

أوكسيتترا سيكلين

أولياندوميسين

إيبوثيولون

أيزوبنيسيلين N

أيزوسيتريت لياز

أيزونيازيد

إيفيرنيموميسين



Bacitracin

Substituent

Propionyl-CoA

MipA protein

OmpR protein

TolC protein

VmsR protein

AfsQ proteins

باستراسين

بديل (مستبدل)

بروبيونيل-CoA

بروتين MipA

بروتين OmpR

بروتين TolC

بروتين VmsR

بروتينات AfsQ

Agr proteins	بروتينات Agr
Amp proteins	بروتينات Amp
Arp proteins	بروتينات Arp
Bar proteins	بروتينات Bar
Bla proteins	بروتينات Bla
Bmr proteins	بروتينات Bmr
LuxI proteins	بروتينات LuxI
Mec proteins	بروتينات Mec
Orf proteins	بروتينات Orf
Tet proteins	بروتينات Tet
Tyl proteins	بروتينات Tyl
Var proteins	بروتينات Var
Vnc proteins	بروتينات Vnc
Cut proteins	بروتينات القطع (الكسر)
<i>Streptomyces</i> antibiotic regulatory proteins	بروتينات المتسلسلة المنظمة للمضاد الحيوي
Pristinamycins	بريستيناميسينات
Bacteria	بكتيريا
Pleuromutilin	بليوروميوتيلين
Bleomycin	بليوميسين
Penicillin	بنسيلين
Polyketide synthases	بوليكيتيد سينثازات
Polymyxin B	بوليميكسين B
Peptide deformylase	بتيد ديفورميلاز
Pentapeptide	بتيد خماسي
Heptapeptide	بتيد سباعي
Lipopeptides	ببتيدات دهنية
Peptidyltransferases	ببتيديل ترانسفيراز (ناقلة الببتيديل) (إنزيمات حفّازة ناقلة للببتيديل)

Beta-lactamases	بيتالاکتامازات
Metallo-beta-lactamases	بيتالاکتامازات - المعدنية
Extended -spectrum -beta -lactamases	بيتالاکتامازات الممتدة - المدى
Pyriminocorin	بيروكوريسين
Butaneolides	بيوتانيوليدات
Puromycin	بيوروميسين
<b>ت</b>	
Tazobactam	تازوبكتام
Tetracycline	تتراسيكلين
Tetracenomycin	تتراسينوميسين
Transpeptidation	نقل الببتيد
Transglycosylation	نقل ارتباط بالغليكوزيل
Triclosan	ترايكلوسان
Trimethoprim	ترايمثوبريم
Trimethoprim-sulfamethoxazole	ترايمثوبريم - سلفاميثوكسازول
Cyclization	تحليق
Translation	ترجمة (إنتساخ)
Sequence	تسلسل
Replication	تكرار
Tobramycin	توبراميسين
Topoisomerases	توبوايزوميرازات
Tiamulin	تياميولين
Tiglicycline	تيجليسيكلين
Tyrocidine	تيروسيدين
Teicoplanin	تيكوبلانين
Tylosin	تيلوسين

Telithromycin

تيليثروميسين



Dimeric

ثنائي الجزيء

Dihydrooxystreptomycin

ثنائي هيدرو أوكسيستربتوميسين

Dihydropetroate synthase

ثنائي هيدرو بيترويت سينثاز

Dihydrofolate reductase

ثنائي هيدرو فولات ريدكتاز

Thienamycin

ثيناميسين

Thioesterases

ثيو استيرازات

Thiopeptides

ثيو ببتيدات

Thioesterases

ثيوستريوتون



Gatifloxacin

جاتيفلو كسامين

Gramacidin -S

جراماسيدين S

glycylcylines

جليسيلسيكليات

Gentamicin

جنتاميسين



Self-protection

حماية - ذاتية

Folic acid

حمض الفوليك

Teichoic acid

حمض تيكويك



Daptomycin

دابتوميسين

D- alanyl-D-alanine ligase

د-الانيل -د-الانين ليفاز

Dalfopristin

دالفوبريستين

D-D-ligase

د-د-ليفاز

DNA-topoisomerases	دنا- توبوايزوميرازات
DNA gyrase	دنا- غايراز
Doxorubicin	دوكسوروبيسين
Doxycycline	دوكسيسيكلين
Daunorubicin	دونوروبيسين
Deoxyerythronolide B	ديوكسي إريثرونوليد B
Deoxyerythronolide B synthases	ديوكسي إريثرونوليد سينثازات B



Racemase	راسيماز
Ramoplanin	راموبلانين
Codon	رامز (راموز)
RNA	رنا (الحمض النووي الريبوي)
Ribosomes	ريبوسومات
Rifampin	ريفامبين
Rifamycins	ريفاميسينات



Zinc hydrolases	زنك هيدرولازات (الإنزيم الحال للزنك)
BtuCD protein pair	زوج البروتين BtuCD



<i>Salmonella</i>	سالمونيلا
<i>Salmonella enteric</i> serovar Typhimurium DT104	سالمونيلا إنتيريكا الضرب المصلي تيفيموريوم DT104
Ciprofloxacin	سيبروفلوكساسين
Spectinomycin	سبيكتينوميسين
Streptogramins	ستربتوجرامينات

Streptomycin	ستربتومييسين
Sulfamethoxazole	سلفاميثوكسازول
Sulfamethoxazole-trimethoprim	سلفاميثوكسازول - ترايمثوبريم
Side chain	سلسلة جانبية
CsdB toxin	سم CsdB
Cholera toxin	سم الكوليرا (الضمة)
Shiga toxin	سم شيجا
Toxins	سموم (ذيفانات)
Sortase	سورتاز
surfactin	سورفاكتين
sulbactam	سولبكتام
sitafloxacin	سيتافلوكساسين
Cerulenin	سيرولينين
<i>Serratia marcescens</i>	سيريشيا مارسيسينز
Serine hydrolases	سيرين هيدروليزات
Ceftazidime	سيفتازايديم
Cefotaxime	سيفوتاكسيم
cyclothialidine	سيكلوثياليدين
Fatty acid synthases	سيتازات الحمض الدهني
Synercid	سينيرسيد

ط

Peptidoglycan	طبقة بيتيدوغليكان
Murine layer	طبقة ميورين

ع

ATP-cassette binding family	عائلة الكاسيت الرابط ل-ATP
-----------------------------	----------------------------



Virulence factors

عوامل الفوعة

غ

Glutathione-S- transferases

غلوتاثيون - إس - ترانسفيراز

Glutamate

غلوتامات

Glycopeptides

جليكوپيبتيدات

Lipoglycopeptides

جليكوپيبتيدات دهنية

Glycosyltransferases

جليكوزيل ترانسفيرازات

ف

Valenemulin

فالنيمولين

Vancomycin

فانكوميسين

Phosphorylation

فسفرة (فوسفوريليشن)

Fuoroquinolones

فلوروكوينولونات

Fosfomycin

فوسفوميسين

Phosphopantetheinyl transferases

فوسفونوبانتيثينيل ترانسفيرازات

Virginiamycins

فيرجينياميسينات

ك

Bacteriostatic

كابح للبكتيريا

Carbapenems

كاربابينيمات

Carbomycin

كاربوميسين

Kanamycin

كاناميسين

Clarithromycin

كلاريثروميسين

Clavulanate

كلافولينيت

Chloramphenicol

كلورامفينيكول

Chlortetracycline

كلورتتراسيكلين

Chloroermomycin	كلوروزارموميسين
Chlorobiocin	كلوروبيويسين
Clinafloxacin	كليناقلوكساسين
Coumarins	كومارينات
Coumermycin	كومرميسين
Quinopristin	كوينوپريستين
Quinolones	كوينولونات
Ketides/ ketolides/ polyketides	كيتيدات / كيتوليدات / بوليكتيتيدات
Cephalosporins	كيفالوسبورينات

ل

Lantibiotics	لانتيبويوتيكات
Adhesions	لاصقات
TEM lactamases	لكتامازات TEM
Levofloxacin	ليفوفلووكساسين
Lincosamide	لينكوساميد
Linezolid	لينيزوليد

م

Macrolides	ماكروليدات
Bactericidal	مبيد (قاتل) للبكتيريا
Variants	متغيرات
Methicillin	مئيسلين
Genome	مجين
Quaternary ammonium compounds	مركبات الأمونيوم (النشادر) الرباعية
Oligomer	مركب ناقص القسمة
Mevalonate pathway	مسار ميفالونيت

Screening	مسح
Peptide antibiotics	مضادات ببتيد الحيوية
Beta lactam antibiotics	مضادات بيتاللاكلام الحيوية
Efflux pumps	مضخات التدفق
MalK pump	مضخة MalK
Resistance	مقاومة
Assay	مقايضة (فحص)
Libraries	مكتبات
Suicide substrates	مواد انتحارية
Moenomycin	مولينو ميسين
Monomer	موجود (مركب أحادي)
Proteogenic	مولد للبروتين
Monooxygenases	مونوأكسيجينازات
Monobactams	مونوبكتامات
Mitomycin	ميتوميسين
Methylenemycin	ميشلينيميسين
Methionine aminopeptidase	ميشيونين أمينوببتيداز
Mersacidin	ميرساسيدين
Meropenem	ميروبينيم
Microcin B17	ميكروسين B17
Mycosubtilin	ميكوسوبتيلين
Mycolyltransferases	ميكوليل ترانسفيرازات
Minocycline	مينوسيكلين
Minimycin	مينيميسين
Mupirocin	ميروبيروسين
Mureidomycins	ميوريدو ميسينات

ن

Naphthyl - dipeptide

نالثيل - داي بيتيد

Nosiheptide

نوسيهيبتيد

Novobiocin

نوفوبيوسين

Neamin

نيامين

Nicin

نيسين

Neomycins

نيومايسينات

Terminus / termini

نهاية / نهايات

هـ

Scaffolds

هياكل (سقالات)

Hygrocin B

هيجروميسين B

و

Lipid I and II intermediates

وسيطات الدهن I و II

ي

*Yersinia*

يرسينيا

## ثانياً: إنجليزي- عربي

## A

Abs proteins	بروتينات Abs
Acetyl-CoA	أسيتيل CoA—
Acetylation	الأمثلة (أسيتيليشن)
Actinonin	أكتينونين
Actinoplanes	أكتينوبلانيس
Actinorhodin	أكتينورودين
Acyl carrier protein	البروتين الحامل لأسيل
Acylhomoserine lactones	أسيل هوموسيرين لاكطونات
Adenylation	الأدلة (أدينيليشن)
Affinity	المجاذب
AfsQ proteins	بروتينات AfsQ
Agg proteins	بروتينات Agg
Agriculture	الزراعة
AI-2 quorum autoinducers	المخثات الذاتية للنصاب —AI-2
Alanine racemase	الآلن راسيماز
Aminocoumarins	أمينوكومارينات
Aminoglycosides	أمينوغليكوسيدات
Amoxicillin	أموكسيسيلين
Amoxicillin-clavulanate	أموكسيسيلين - كلافلونيك
Amoxicillin-sulbactam	أموكسيسيلين - سلبكتام
Amp proteins	بروتينات Amp
<i>Amycolopsis orientalis</i>	أميكولتوسيس أورينتاليز
Antibiotics	المضادات الحيوية
Antibiotic biosynthesis	البناء الحيوي للمضاد الحيوي

Arp proteins

بروتينات Arp

Assay

مقاسة (تحليل)

ATP-binding cassette family

عائلة الكاسيت الرابط ل-ATP

Avoparcin

أفوبارسين

Azithromycin

أزيتروميسين

Aztreonam

أزيترونام

## B

*Bacillus subtilis*

العصية الرقيقة

Bacitracin

باستراسين

Bacteria

بكتيريا

Bacterial targets

أهداف بكتيرية

Bactericidal

مبيد (قاتل) للبكتيريا

Bacteriostatic

مثبط (كايح) للبكتيريا

*Bacteroides fragilis*

المعصوانية الهشة

Bar proteins

بروتينات Bar

Beta-lactam antibiotics

مضادات بيتالكتام الحيوية

Beta-lactamase inhibitory protein

البروتين المثبط لبيتالكتاماز

Beta-lactamases

بيتالكتامازات

Biofilms

الأفلام الحيوية

Biosynthesis

البناء الحيوي

Bla proteins

بروتينات Bla

Bleomycin

بليوميسين

Bmr proteins

بروتينات Bmr

BtuCD protein pair

زوج البروتين BtuCD

Butaneolides

بيوتانوليديت

## C

C<sub>55</sub> undecaprenyl phosphopantetheinyl synthase

Calcium-dependent antibiotic

Carbapenems

Carbomycin

CsdB toxin

Cefotaxime

Ceftazidime

Cell membranes

Cell wall biosynthesis

Cephalosporins

Cerulein

Chloramphenicol

Chlorobiocin

Chloroermomycin

Chlortetracycline

Cholera toxin

Ciprofloxacin

Clarithromycin

Clavulanate

Clinafloxacin

*Clostridium difficile*

Combination therapy

Combinational chemistry

Coumarins

Coumermycin

C<sub>55</sub>أنديكابرينيل فوسفوانتيثينيل سينثاز

المضاد الحيوي - المعتمدة على - الكالسيوم

كارباينيمات

كاريوميسين

سم CsdB

سيفوتاكسيم

سيفتازيديم

أغشية الخلية

البناء الحيوي لجدار الخلية

كيفالوسبورينات

سيرولينين

كلورامفينيكول

كلوروبيوسين

كلورويرموميسين

كلورتتراسيكلين

سم الكوليرا (الضمة)

سiproفلوكساسين

كلاريثروميسين

كلافولينيت

كليناقلوكساسين

المطثية العسيرة

المعالجة التوليفية

الكيمياء الاندماجية (الاتحادية)

كومارينات

كومر ميسين

Cross linking	ربط تبادل
Cut proteins	بروتينات القلع (الكسر)
Cyclization	تحليق
Cyclothialidine	سيكلوثياليدين

D

D-Alanyl-D-alanine ligase	د-الانيل -د-الانين ليغاز
Dalfopristin	دالفوبريستين
Daptomycin	دابتوميسين
Daunorubicin	دونوروبيسين
D-D-Ligase	د-د-ليغاز
Deoxyerythronolide B	ديوكسي إريثرونوليد B
Deoxyerythronolide B synthases	ديوكسي إريثرونوليد B سينثازات
Dihydrofolate reductase	ثنائي هيدروفوليت ريدكتاز
Dihydropetroate synthase	ثنائي هيدروبيترويت سينثاز
Dihydroxystereptomycin	ثنائي هيدروأوكسيسترپتوميسين
Dimeric	ثنائي الجزية (مثنوي)
DNA	الحمض النووي -دنا
DNA gyrase	دنا- غيراز (الإنزيم المفاقي لدنا)
DNA topoisomerases	دنا- توبوايزوميرازات
Doxorubicin	دوكسوروبيسين
Doxycycline	دوكسيسيكلين

E

Efflux pumps	مضخات التدفق
Emerging bacterial diseases	الأمراض البكتيرية الناشئة
Enterococci	المكورات العقدية المعوية



Enterofloxacin	إنتيروفلوكساسين
Epivancomycin	إيفانكوميسين
Epothilone	إيبوثيلون
Ertapenem	إرتابينيم
<i>Erwinia carotovora</i>	إروينيا كاروتوفورا
Erythromycin	إريثروميسين
<i>Escherichia coli</i>	الإشريكية القولونية
Evemimomycin	إيفيرتيموميسين
Evolution	التطور
Extended-spectrum beta-lactamases	بيتا لكتامازات الممتدة - المدى



Fatty acids	أحماض دهنية
Fatty acid synthases	سيتازات الحمض الدهني
Fluoroquinolones	فلوروكوينولونات
Folic acid	حمض الفوليك
Food animals	أعلاف (أغذية) الحيوانات
Fosfomycin	فوسفوميسين



Gatifloxacin	جاتيفلوكساسين
Gentamicin	جنتاميسين
Genome	مجين
GlmU enzyme	إنزيم GlmU
Glutamate	غلوتامات
Glutathione-S-transferase	غلوتاثيون - إس - ترانسفيراز
Glycopeptides	جليكوپبتيدات

Glycosyltransferases	غليكوزيل ترانسفيرازات
Glycylcyclines	غليسيلسيكلينات
Gram –negative bacteria	البكتيريا السالبة – لغرام
Gram –positive bacteria	البكتيريا الموجبة – لغرام
Gramacidin S	جراماسيدين S
Gyrase	غيراز (الإنزيم اللفافقي)



Hemolysin protein	البروتين الحال للدم
Heptaepptide	بتيد سباعي
Hygromycin B	هيجروميسين B



Imipenem	إمبينيم
Isocitrate lyase	أيزوستريت لياز
Isomerization	التزامرية التشابكية
Isoniazid	أيزونيازيد
Isopenicillin N	أيزوبنيسيلين N



Kanamycin	كاناميسين
Ketides / ketolides / polyketides	كيتيدات / كيتوليدات / بوليكتيتيدات
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	الكلبسيلا الرئوية



L-Aminoadipyl-L-cysteinyl-L-valine (ACV)	إل-أمينو أديبيل-إل-سيسئينيل-إل-فالين
L-Aminoadipyl-L-cysteinyl-D-valine (ACV) synthase	إل-أمينو أديبيل-إل-سيسئينيل-د-فالين سينثاز
	(إنزيم تركيبى) (ACV)

Lantibiotics	لانتيبوتيكتات
Levofloxacin	ليفوفلوكساسين
Libraries	مكتبات
Lincosamide	لينكوساميد
Linezolid	لينيزوليد
Lipid A	الدهن A
Lipid I and II intermediates	وسيطات الدهن I و II
Lipoglycopeptides	غليكوبيبتيدات دهنية
Lipopeptides	ببتيدات دهنية
LpxC enzyme	إنزيم LpxC
LuxI proteins	بروتينات LuxI

M

Macrolides	ماكروليدات
Major facilitator subfamily	العائلة الفرعية الرئيسية المساعدة
MalK pump	مضخة MalK
Mature autoinducing peptide	الببتيد المُحث الذاتي الناضج
Mec proteins	بروتينات Mec
Meropenem	ميرابينيم
Mersacidin	ميرساسيدين
Metallo-beta-lactamases	بيتاللاكتامازات-المعدنية
Methicillin	مثيسيلين
Methicillin resistant Staphylococcus aureus (MRSA)	المكورة العنقودية الذهبية المقاومة للمثيسيلين (MRSA)
Methionine aminopeptidase	ميتيونين أمينوببتيداز
5'-Methoxyhydnocarpin D	5'-ميثوكسي هيدنوكاربين D
Methylenemycin	ميتيلينيميسين
Mevalonate pathway	مسار ميفالونيت

Microcin B17	ميكروسين B17
Minimycin	مينيميسين
Minocycline	مينوسيكلين
MipA protein	ميروئين MipA
Mitomycin	ميتوميسين
Moenomycin	مواينوميسين
Monobactams	مونوباكتامات
Monomer	موجود (مركب أحادي)
Monooxygenases	مونوأكسيجينازات
MraY enzyme	إنزيم MraY
Multi-drug resistance	المقاومة المتعددة-الدواء
Mupirocin	ميويروسين
Mur enzymes	إنزيمات Mur
Mureldomycins	ميوريدوميسينات
Murein layer	طبقة ميورين
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	المتفطرة السلية
Mycolytransferases	ميكوليل ترانسفيرازات
Mycosubtilin	ميكوسوبتيلين

N

Naphthyl-dipeptide	نافثيل-ثنائي الببتيد
Neamine	نيامين
Neomycins	نيومايسينات
New antibiotics	المضادات الحيوية الجديدة
Nisin	نيسين
Nosiheptide	نوسيهبتيد
Nosocomial infections	العدوى المكتسبة

Novel antibiotics

المضادّات الحيوية الجديدة

Novobiocin

نوفوبيوسين

## O

Oleandomycin

أولياندوميسين

Oligomeric

مركب ناقص القسمة

OmpR protein

بروتين OmpR

Orf proteins

بروتينات Orf

Ortavacin

أورتافاسين

Oxytetracycline

أوكسيتتراسيكلين

## P

Penicillin

بنسيلين

Penicillin-binding proteins

البروتينات المرتبطة - بالبنسيلين

Pentapeptide

ببتيد خماسي

Peptide antibiotics

مضادّات ببتيد الحيوية

Peptide deformylase

ببتيد ديفورملاز

Peptidoglycan layer

طبقة ببتيدوغليكان

Peptidyltransferases

ببتيديل ترانسفيرازات (ناقلة الببتيديل)

Phosphonopantetheinyltransferase

فوسفونوباتثينيل ترانسفيرازات

Phosphorylation

فسفرة (فوسفوريليشن)

Pleuromutilin

بليوروميوتيلين

Polyketide synthases

بوليكيتيد سينثازات

Polymyxin B

بوليميكسين B

Porins

مسامات

Pristinamycins

بريستيناميسينات

Propionyl-CoA

بروبيونيل-CoA

Protein biosynthesis	البناء الحيوي للبروتين
Protein secretion	إفراز البروتين
Proton motive force	القوة الدافعة للبروتون
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	الزائفة الزنجارية
Puromycin	بيوروميسين
Pyrrhocoricin	بيروكورييسين

Q

Quaternary ammonium compounds	مركبات الأمونيوم (النشادر) الرباعية
Quinolones	كوينولونات
Quinupristin	كوينوبريستين
Quorum sensing	إستشعار النصاب

R

Racemase	راسيماز
Ramoplanin	راموبلانين
Repair	إصلاح
Resistance	مقاومة
Ribosomes	ريبوسومات
Rifampin	ريفامبين
Rifamycins	ريفاميسينات
RNA	الحمض النووي الريبسي - رنا

S

<i>Salmonella</i>	سالمونيلا
<i>Salmonella enterica</i> serovar Typhimurium DT104	سالمونيلا إنتيريكا الضرب المصلي تيفيموريم DT104
Scaffold	هيكل (سقالة)

Screening	مصح
Secretion	إفراز
Secretion systems	أنظمة الإفراز
Self-protection	حماية-ذاتية
Serine hydrolases	سيرين هيدرولاز
<i>Serratia marcescens</i>	سيريشيا ماريسينز
Sequence	تسلسل
Shiga toxin	سم شيجا
<i>Shigella dysenteriae</i>	الشيغيلا الزحارية
Side chain	سلسلة جانبية
Sitafloxacin	سيتافلوكساسين
Small multidrug regulator family	العائلة الصغيرة المتعددة الدواء المنظمة
Sortase	سورتاز
Spectinomycin	سبيكتينوميцин
<i>Staphylococcus aureus</i>	المكورة العنقودية الذهبية
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	المكورة العقدية الرئوية
<i>Streptococcus pyogenes</i>	المكورة العقدية القيحية
Streptogramins	ستربتوجرامينات
<i>Streptomyces</i>	المتسلسلة
<i>Streptomyces</i> antibiotic regulatory proteins	بروتينات المتسلسلة المنظمة للمضاد الحيوي
<i>Streptomyces antibioticus</i>	المتسلسلة انتيبوتيكنس
<i>Streptomyces calvuligerus</i>	المتسلسلة كافوريجيريس
<i>Streptomyces coelicolor</i>	المتسلسلة كوليكولر
<i>Streptomyces fradiae</i>	المتسلسلة فرادي
<i>Streptomyces lavendulae</i>	المتسلسلة لافنديولي
<i>Streptomyces peucetius</i>	المتسلسلة بيوسيتيس

<i>Streptomyces toyocaensis</i>	المتسللة تويوكانسيس
<i>Streptomyces vinezulelae</i>	المتسللة فينزولي
<i>Streptomyces virginiae</i>	المتسللة فيرجيني
<i>Streptomyces wedmorensis</i>	المتسللة ويندمورينسيس
Streptomycin	ستريptomيسين
Suicide substrates	مواد انتحارية
Sulbactam	سولبكتام
Sulfamethoxazole	سلفاميثوكسازول
Sulfamethoxazole -trimethoprim	سلفاميثوكسازول-ترايمثوبريم
Surfactin	سورفاكتين
Susceptibility testing	إختبار الحساسية
Synercid	سينيرسيد

## T

Targets	أهداف
Tazobactam	تازوبكتام
Teichoic acid	حمض التيكويك
Teicoplanin	تيكوبلانين
Telithromycin	تيليثروميسين
TEM lactamases	لكتامازات TEM
Tet proteins	بروتينات Tet
Tetracenomycin	تتراسينوميسين
Tetracycline	تتراسيكلين
Thienamycin	ثيناميسين
Thioesterases	ثيوإستيرازات
Thiopeptides	ثيوپيپتيدات
Thiostrepton	ثيوستريبتون



Tiamulin	تيامولين
Tigilicycline	تيجيليسيكلين
Tobramycin	توبراميسين
TolC protein	بروتين TolC
Topoisomerases	توبوايزوميرازات
Toxins	سموم (ذيفانات)
Transglycosylases	تسranسغليكوسيلازات
Translation	ترجمة (إنتساخ)
Transpeptidation	نقل الببتيد
Triclosan	ترايكلوسان
Trimethoprim	تراميثوبريم
Trimethoprim-sulfamethoxazole	تراميثوبريم - سلفاميثوكسازول
Tuberculosis	الدرن (السل)
Two-component regulatory systems	الأجهزة (الأنظمة) المنظمة ذات - الشقين
Tyl proteins	بروتينات Tyl
Tylosin	تيلوسين
Tyrocidine	تيروسيدين



Undecaprenyl phosphonopantetheinyl synthase

أندي كابرينيل فوسفوبانتيثينيل سينثاز

Undecylprodigiosin

أنديسيل بروديوجيوسين



Valnemulin

فالنيمولين

Van phenotypes

الأنماط الظاهرية Van

Vancomycin

فانكوميسين

Vancomycin resistant enterococci (VRE)

المكورة المعوية المقاومة للفانكوميسين

Var proteins

بروتينات Var

variants

متغيرات

Virginiamycins

فيرجينياميسينات

Virulence factors

عوامل الفوعة

VmsR protein

بروتين VmsR

Vnc proteins

بروتينات Vnc

Y

*Yersinia*

يرسينيا

Z

Zinc hydrolase

زنك هيدرولازات

## كشاف الموضوعات

أ	أزثروميسين
أدينيل ليشن (الأدلة) في تعطيل أمينوغليكوسيد ١٢٩ ١٣٢-	دواعي الاستعمال ٦٣ المقاومة ل ١٥٨-١٥٩
إرتانينيم ، التأثيرات على البناء الحيوي لجدار الخلية ٤٨ إروينيا كاروتوفورا	التركيب ٦٢ إستشعار النصاب
البناء الحيوي للمضاد الحيوي في ١٨٣ المقاومة في ، آلية إفراز البروتين في ١٤٩	كهلف مضاد حيوي ٢٨٥-٢٨٧ في البكتيريا السالبة -لغرام ١٨٢-١٨٤ ، ٢٨٥- ٢٨٧
إريثروميسين (إريثروميسينات)	الأسئلة (أستيليشن) ، في تعطيل أمينوغليكوسيد ١٢٩- ١٣٢
البكتيريا المنتجة ، الحماية الذاتية ضد ١٠٣-١٠٦ البناء الحيوي ١٩٩-٢٠٤ ، ٢٠٤-٢٠٧	أسيتيل -CoA ، في بناء الكيتيد ١٨٧ أسيل هوموسيرين لأكسونات ، كأهداف مضاد حيوي ٢٨٦-٢٨٧
٢٩٨-٢٩٥	الإشريكية القولونية
آلية العمل ، ٦٤- ٦٥	أهداف المضاد الحيوي في ٢٥٣-٢٥٤
التأثيرت على البناء الحيوي للبروتين ٦٣-٦٥ المقاومة ١٥٨-١٥٩	O157:H7 ، المقاومة في ١٤٨-١٤٩
التركييب ١٢ ، ٦٤-٦٣ ، ١٠٤	المقاومة في ٣١٠-٣١١
أزثريونام	مضادات - بيتا لأكتام الحيوية ١١٨
تأثيرات البناء الحيوي لجدار الخلية ٤٨	مضخات التدفق في ١٣٧ ، ١٣٩-١٤١ ، ١٤٤
آلية العمل ١٢٠	البنسيليئات ١٢٤-١٢٥
التركيب ٤٠ ، ١٢٠	

- آلية إفراز البروتين ١٤٩-١٥١ إمينيم
- إفراز البروتين، كآلية مقاومة ١٤٩-١٥١
- الأفلام الحيوية، إستشعار النصاب في ٢٨٨-٢٨٥
- أفوارسين، لغذاء الحيوانات، تطوّر المقاومة و ٣١٤
- أكتينوبولانيس، المنتجة لفانكوميسين، الحماية-الذاتية ضد ١٠٦
- أكتينورودونين، البناء الحيوي ١٧٣-١٧٤
- أكتينونين، التركيب ٢٦٩
- إل- أمينو أدييل -إل- سيستينيل -د- فالين سينثياز (ACV) ٢٠٩-٢١٣، ٢١٤-٢١٥
- إل-أمينو أدييل -إل- سيستينيل -إل-فالين (ACV)، في البناء الحيوي لمضادات البثيد الحيوية ٢٠٩
- باستراسين ٢١٩-٢٢١
- كيفالسورينات ٢٢٢-٢٢٦
- كلورارموميسين ٢١٦-٢١٩
- بنسيلينات ٢٢٢-٢٢٦
- تيكوبلانين ٢٢٧-٢٢٩
- تيروسيدين ٢١٩-٢٢٠
- فانكوميسين ٢١٦-٢١٩، ٢٢٧-٢٢٩
- آليات الحماية - الذاتية، للبكتيريا المنتجة للمضاد الحيوي، انظر البكتيريا، الحماية الذاتية في الأمراض البكتيرية الناشئة ٣٠٧-٣٠٨
- أموكسيسيلين، التركيب ١٢
- أموكسيسيلين - كلافلونيت، طريقة العمل، أموكسيسيلين - سلباكتام
- آلية العمل ١٢١-١٢٣
- التأثيرات على البناء الحيوي لجدار الخلية ٤٨
- التركيب ٤٠، ١٢٠
- أميكلاتوميسيس أوريتاليز، في البناء الحيوي لفانكوميسين ١٦٨
- أمينوغليكوسيدات
- البناء الحيوي ل ٢٣٧-٢٣٩
- تأثيرات البناء الحيوي للبروتين على ٧٠-٧١،
- ٢٦٦
- مقاومة آل الإنزيمات التي تسبب ١٢٩-١٣٢
- أمينو كمارينات
- البكتيريا المنتجة، الحماية الذاتية ضد ١٠٦
- البناء الحيوي ل ٢٤١-٢٤٤
- إنتيروفلوكساسين، لأعلاف الحيوانات، تطوّر المقاومة ٣١٢، ٣١٣
- أنديميل بروديجيوسين، البناء الحيوي ١٧٤
- أنديكابرينيل فوسفوبانتثينيل سينثياز، كهدف مضاد حيوي ٢٧٩-٢٨٠
- Cos أنديكابرينيل فوسفوبانتثينيل سينثياز، كهدف مضاد حيوي ٢٧٨-٢٨٠
- إنزيم LpxC، في البناء الحيوي للدهن A ٢٨١
- إنزيم MraY، في البناء الحيوي لجدار الخلية ٣٤-٣٥
- إنزيمات Mur، في تجميع بيتدوغليكان ٢٧-٣١
- GlmU إنزيمات، كهدف مضاد حيوي ٢٦٠
- أنظمة الإفراز، كآليات مقاومة ١٤٩-١٥١
- الأنظمة ذات-الشقين التنظيمية ١٧٣-١٧٤، ٢٨٢-٢٨٤

- الأنماط الظاهرية Van، في مقاومة المكوراتية المعوية  
١٦٠-١٦٦ البناء الحيوي ١٩٩-١٩٤
- الأتين راسيماز، في تجميع الببتيدوغليكان ٣٣-٣٢ التركيب ١٩٤
- أهداف، المضادات الحيوية، انظر الأهداف البكتيرية أولياندوميسين
- الأهداف البكتيرية البكتيريا المنتجة، الحماية الذاتية ضد ١٠٦-١٠٣
- تصنيف المضادات الحيوية بواسطة ١٩-١٤ التركيب ١٠٤
- البناء الحيوي لجدار الخلية ٢٣-٥٣، ٢٥٦-٢٦٢ إيثيرولون، كجزء هجين ٣٠١
- تكرار وترميم دنا ٧٥-٨٢، ٢٧٠-٢٧٤ إبيفانكوميسين ٣٠٣
- مضخات التدفق، انظر مضخات التدفق أيزونيسيلين N، التركيب ٤٠
- البناء الحيوي للحمض الدهني ٢٧٥-٢٧٦ أيزوستريت لياز، كهدف مضاد حيوي ٢٨٠-٢٨١
- أيض حامض الفوليك ٨٣-٨٧ أيزونيازيد، التأثيرات على البناء الحيوي للحمض
- أيزوستريت لياز ٢٨١ الدهني ٢٧٥
- البناء الحيوي لأيزويزرينويد ٢٧٧-٢٨٠ أبيض حمض الفوليك، تأثيرات سلفاميثوكساسول-
- البناء الحيوي للدهن ٢٨١ A تراييثيوريم على ٨٣-٨٧
- التعديل ١٥٣-١٦٦ إيفرينيموميسين، التأثيرات على البناء الحيوي للبروتين
- في الماكروبيدات ١٥٨-١٥٩ ٢٦٣-٢٦٦
- نهايات ببتيديوغليكان ١٥٩-١٦٦
- المكورة العقودية النهمية المقاومة للمثيلين ١٥٣-
- ١٥٦
- المكورة الرئوية المقاومة لببتاكتام ١٥٧
- للمضادات الحيوية الجديدة، انظر المضادات
- الحيوية الجديدة، الأهداف ل نظرة عامة عن ٢٠
- لمضادات الببتيد الحيوية ٨٧-٩١
- البناء الحيوي للبروتين ٥٥-٧٣، ٢٦٣-٢٦٩
- عمل رنا بوليميراز ٩٢-٩٣
- أورتافانسين ١٦٦
- ٢٢١-٢٢١٤ البناء الحيوي
- التأثيرات على البناء الحيوي لجدار الخلية ٣٤-٣٧
- آلية العمل ٨٧
- التركيب ٣٩، ٢١٠
- الببتيد المحث الذاتي الناضج، كهدف مضاد حيوي
- ٢٨٥
- ببتيد ديفورميرلاز، كهدف مضاد حيوي ٢٦٨-٢٦٩

- ببتيليل ترانسفيرازات (ناقلة الببتيليد)، في بناء البروتين البكتيري ٥٥-٦١
- بروتين CoA-، في بناء كيتيد ١٩٦
- بروتين MipA، معقدات البروتين المرتبط-بالنيسيلين مع ٣٨
- بروتين MsbA، كمضخة تدفق ١٣٩-١٤٢
- بروتين OmpR، في تنظيم البناء الحيوي للمضادات الحيوية ١٧٨-١٧٩
- بروتين TolC، كمضخة بروتين ١٤٤
- بروتين Var، في البناء الحيوي للمضاد الحيوي ١٧٩
- بروتين VmsR، في تنظيم البناء الحيوي للمضاد الحيوي ١٧٨، ١٧٩
- بروتين Vnc، في مقاومة المكورة العقدية الرئوية ١٢٩
- البروتين الحال للدم (هيموليزين)، الإشريكية القولونية ١٥٠
- البروتين الحامل للأسيل، في بناء الكيتيد ١٨٨-١٩٣
- البروتين المثبط لبيتالاكتاماز ١٢١-١٢٤
- بروتينات Abs، المتسلسلة كوليكولر، في تنظيم البناء الحيوي للمضاد الحيوي ١٧٢-١٧٤
- AfsQ بروتينات، المتسلسلة كوليكولر، في تنظيم الناء الحيوي للمضاد الحيوي ١٧٣-١٧٤
- Agf بروتينات، المكورة العنقودية الذهبية ٢٨٥-٢٨٦
- Amp بروتينات، في مقاومة الإشريكية القولونية ١٢٤-١٢٥
- Bla بروتينات، في مقاومة المكورة العنقودية الذهبية ١٢٦-١٢٨
- Bmr بروتينات، كمضخات تدفق ١٤٥-١٤٨
- LuxI بروتينات، كأهداف مضاد حيوي ٢٨٦-٢٨٧
- Mec بروتينات، في مقاومة المكورة العنقودية الذهبية ١٥٣-١٥٦
- Orf بروتينات، في البناء الحيوي لفوسفومييسين ٢٣٦
- Tet بروتينات وكمضخات تدفق ١٣٧، ١٤٥-١٤٦
- Tyl بروتينات، في تنظيم البناء الحيوي للمضاد الحيوي ١٨٠
- SARPs (البروتينات المنظمة لمضادات المتسلسلة الحيوية) ١٧٨-١٨١
- البروتينات المنظمة لمضادات المتسلسلة الحيوية (SARPs) ١٧٨-١٨٠
- بروتينات بار، في تنظيم البناء الحيوي للمضاد الحيوي ١٧٩-١٨٠
- البروتينات-المرتبطة بالنيسيلين ١١٥-١١٩
- التطور إلى بيتالاكتامازات ١١٦-١١٧، ١١٨
- التنظيم ٤٢-٤٤
- معقدات MipA مع ٣٨
- المكورة العقدية الرئوية ١٥٧
- بريستناميسينات ٦٦-٦٧
- البناء الحيوي ١٧٥-١٧٦، ٢٣٢-٢٣٣
- كجزء هجين ٣٠١-٣٠٢
- المقاومة ٣١٣
- التراكيب ٢١٠، ٢٣٣
- البكتيريا
- تدفق المضاد الحيوي من، انظر مضخات التدفق

- البناء الحيوي بواسطة، انظر البناء الحيوي لجدار الخلية  
البروتين، انظر البناء الحيوي للبروتين
- البناء الحيوي لأيزوبرينويد وكهدف مضاد حيوي ٢٧٧-  
٢٧٩
- البناء الحيوي لجدار الخلية ٢٣-٥٣
- تأثيرات تعديل السلسلة الجانبية للمضادات  
الحوية على ٤٥-٤٩
- الحساسية للمضادات الحوية والإعبارات  
التركيبية في ٢٣-٢٦
- أهداف المضاد الحيوي في ٢٥٦-٢٦٢
- تأثيرات باستراسين على ٣٤-٣٨
- تأثيرات بيتالانكام على ٣٩-٤٨  
في GImU في ٢٦٠
- تأثيرات غليكوببتيد على ٤٩-٥١
- في البكتيريا المسالبة-لغرام الموجبة-لغرام ٢٣-٢٦  
D,D-ليفاز في ٣٢-٣٣
- تكوين وسيط الدهن في ٣٤-٣٥
- تأثيرات مولينوميسين على ٥٢-٥٣
- إنزيمات Mur في ٢٧-٣١
- A85 المضطري في ٢٥٦-٢٥٩
- تكوين الوحدة الكاملة لببتيدوغليكان في ٣٦-  
٣٨
- التجميع الإنزيمي لببتيدوغليكان في ٢٧-٣٤
- راسيماز في ٣٢-٣٣
- تأثيرات رامولانين على ٣٢-٣٥
- سورتاز المكوراتي العنقودي في ٢٥٦-٢٥٧
- البناء الحيوي بواسطة، انظر البناء الحيوي لجدار  
الخلية
- البناء الحيوي للبروتين في، انظر البناء الحيوي  
للبروتين
- المقاومة في، انظر المقاومة
- الحماية الذاتية في ٦
- منتجي أمينوكومارين ١٠٦-١٠٦
- منتجي مأكروليد ١٠٣-١٠٦
- منتجي ميتوميسين ١٠٨-١٠٩
- المُعرضة ١٠٩-١١٣
- منتجي فانكوميسين ١٠٦-١٠٧
- البكتيريا المسالبة - لغرام
- البناء الحيوي للمضاد الحيوي في، التنظيم ١٨٢-  
١٨٤
- تركيب جدار الخلية ٢٣-٢٦
- البناء الحيوي للدهن A في ٢٨١
- المقاومة في ١٤٩-١٥١
- تنظيم عامل الفوعة في ١٨٢-١٨٤
- البكتيريا الموجبة-لغرام، تركيب جدار الخلية ٢٣-٢٦
- بليوروميثيلين، التأثيرات على البناء الحيوي للبروتين ٢٦٣
- بليوميسين
- البناء الحيوي ٢٣٢-٢٣٣
- كجزيء هجين ٣٠٢
- التركيب ٢٣٣
- البناء الحيوي
- المضادات الحوية، انظر البناء الحيوي للمضادات  
الحوية

- ترانسجليكوسيلاز و٥٢-٥٣، ٢٦١-٢٦١  
 نقل الببتيد في ٣٩-٤٥، ٤٩-٥١  
 البناء الحيوي للبروتين ٥٥-٧٣  
 أمينواسيل tRNA، سينثاز في ٢٦٩  
 تأثيرات أمينوغليكوسيد على ٧٠-٧١  
 كهدف مضاد حيوي ٢٦٣-٢٦٩  
 تأثيرات إريثروميسين على ٦٣-٦٥  
 تأثيرات جليسيكلين على ٦٨، ٧٠  
 تأثيرات لينزوليد على ٧٢-٧٣  
 ميثونين أمينوببتيداز في ٢٦٨، ٢٦٩  
 تأثيرات ميوبيروسين ٢٦٩  
 ببتيد ديفورميلاز في ٢٦٨-٢٦٩  
 دورة ببتيديل ترانسفيراز في ٥٥-٦٢  
 تركيب الريبوسوم في ٥٥-٦٢، ٢٦٣-٢٦٧  
 تأثيرات جمع الببتيد غيرالريبوسومي التآزري  
 على ٦٦-٦٧  
 تأثيرات تتراسيكلين على ٦٨-٧٠  
 البناء الحيوي للمضادات الحيوية ٥ انظر كذلك المضادات  
 الحيوية المحددة  
 الببتيدات غير الريبوسومية ٢٠٩-٢٣٤  
 الجديدة  
 مكثبات ال ٢٩٣-٣٠٠  
 الببتيدات غير الريبوسومية ٢٩٩-٣٠٣  
 بوليكتينيدات ٣٠١-٣٠٥  
 بوليكتينيدات ٢٩٦-٣٠٥  
 تنظيم ال ١٦٩-١٨٤  
 في اليكتيريا السالبة- لغرام ١٨٢-١٨٤
- في التسلسلات ١٦٩-١٨١  
 ATP بروتينات، في البناء الحيوي للمضادات  
 الحيوية ١٧٩  
 البناء الحيوي للمضادات الحيوية - المعتمدة على  
 الكالسيوم ٢٨١-٢٨٥  
 التركيب ١٦٨  
 بنسليين (بنسليينات)  
 البناء الحيوي ٢٢٢-٢٢٦  
 التأثيرات على البناء الحيوي لجدار الخلية ٣٩-  
 ٤٧  
 الأجيال ٤٥-٤٧  
 المقاومة ١٢٤-١٢٩  
 بيتاكتامازات في، انظر بيتاكتامازات  
 المكورة العقدية الرئوية ١٥٧  
 تعديلات السلسلة الجانبية ٤٥-٤٧  
 التراكيبي ٤٠، ٤٦، ٤١٠  
 بوليكتينيد سينثاز ١٨٧-٢٠٧  
 الخصائص ١٨٧-١٩٤  
 مقابل سينثاز الحمض الدهني ١٨٧  
 المكتبات، لتطور المضاد الحيوي الجديد ٢٩٤-  
 ٣٠٣  
 التراكيبي ١٩٤  
 النوع I ١٨٨، ١٩٠-١٩٣، ١٩٩-٢٠٤  
 النوع II ١٨٨، ١٩٠-١٩٣، ١٩٩  
 بوليميكسين B  
 آلية العمل ٨٧  
 التركيب ٨٨



- بيتالاکتاما زات ١١٥-١٢٩
- الموقع النشط -سمرین هیدرولازات ١١٥-١١٩
- التصنيف ١١٦
- الإشريكية القولونية ١٢٤-١٢٥
- تنظيم إظهار البروتين بواسطة ١٢٤-١٢٩
- المعدن ١١٩، ١٢٣-١٢٤
- معادلة (إبطال) ١٢٣-١٢٤
- عدد الـ ١١٦
- المواد البيطشة لـ ١٢٠
- المكورة العنقودية الذهبية ١٢٦-١٢٨
- المكورة العقدية الرئوية ١٢٩
- التراكيب ١١٧
- مواد الإنتحار لـ ١٢١-١٢٣
- زنك هيدرولازات ١١٩
- بيتالاکتاما زات-المعدنية ١١٩، ١٢٣-١٢٤
- بيروكوريدسين، آلية العمل ٩١
- بيوتانويليدات، في البناء الحيوي للمضادات الحيوية
- ١٧٥-١٧٨
- بيوروميسين، آلية العمل ٦٦
- تازوبكتام ١٢١-١٢٢
- تتراسيكلين (تتراسيكلينات)
- البناء الحيوي ١٩٤-١٩٩
- التأثيرات على البناء الحيوي للبروتين ٦٨-٧٠
- المقاومة ١٤٥-١٤٦
- التراكيب ١٢، ٦٢، ٦٩، ١٩٤
- تتراسينوميسين ١٩٤-١٩٩
- ترايكلوسان، التأثيرات على البناء الحيوي للحمض
- الدهني ٢٧٥
- ترايميثوريم، التركيب ١٢
- ترايميثوريم-سلفاميثوكسازول
- التأثيرات على أبيض حمض فوليك ٨٣-٨٧
- المقاومة ٣١٠
- تتراسنغليكوسيلازات، في البناء الحيوي لجدار الخلية
- ٣٦-٣٨، ٢٦٠-٢٦١
- توبراميسين، البناء الحيوي ٢٣٧-٢٣٩
- توبوايزوميرازات، دنا، تأثيرات كوينولون على ٧٥-
- ٨١، ٢٧٠-٢٧٤
- تيامولين، التأثيرات على البناء الحيوي للبروتين ٢٦٣
- تيجيباسيكلين، التأثيرات على البناء الحيوي للبروتين ٦٨
- تيروسيدين، البناء الحيوي ٢١٤-٢٢٠
- تيكوبلانين
- البناء الحيوي ٢٢٧-٢٢٩
- التأثيرات على البناء الحيوي لجدار الخلية ٤٩-٥١
- جينات، إعادة البرمجة الإندماجية ٣٠٣
- التركيب ٥٠، ١٠٧، ٢٣٠
- تيلوسين
- البكتيريا المنتجة، الحماية الذاتية ضد ١٠٣-١٠٦
- البناء الحيوي ١٩٩-٢٠٤
- آلية العمل ٦٣-٦٥
- التركيب ٦٢، ١٠٤
- تيليشروميسين ١٥٩
- آلية العمل ٧٣

ت

التركيب ٦٢



ثنائي هيدروبيروتيت سيثيثاز، ثبيط الـ سلفاميثوكسازول  
في ٨٣-٨٦  
ثنائي هيدروفوليت ريدكتاز، الثبيط، ترايبيثوبريم في  
٨٣-٨٧  
ثنائي هيدروكسي سترتوميسين، البناء الحيوي ٢٤٠  
ثيناميسين

آلية العمل ١٢١

التركيب ٤٠

ثيوليسترازات

في بناء كيتيد ١٩١

في البناء الحيوي للبيتيد غير الريبوسومي ٢١٣،  
٢١٩-٢٢٠

ثيويثبيدات، التأثيرات على البناء الحيوي للبروتين  
٢٦٥-٢٦٦  
ثيوسترتون

التأثيرات على البناء الحيوي للبروتين ٢٦٦

التركيب ٢٦٧



جاثيفلوكساسين

في تثبيط دنا غيراز ٧٥

التركيب ٧٦

جدران الخلية، تأثيرات مضادات البيتيد الحيوية على  
٨٧-٩١

جراميسيدين S

آلية العمل ٨٧

التركيب ٨٨

جليسيلسيكيلينات، التأثيرات على البناء الحيوي  
للبروتين ٦٨، ٧٠  
جنتاميسين

البناء الحيوي ٢٣٧-٢٤١

التركيب ٢٣٨



الحمض (الأحماض) الدهني، البناء الحيوي، مهدف  
للمضاد الحيوي ٢٧٥-٢٧٦  
الحمض الدهني سيتازات و مقابل بوليكتيد سيتازات  
١٨٧، ١٩٣



د-الأنيل -د-الأنين ليفاز، في البناء الحيوي لجدار  
الخلية ٣٢-٣٣، ١٥٩-١٦٦  
دابتوميسين

البناء الحيوي ٢٣٠-٢٣٢

آلية العمل ٨٧، ٨٩

التركيب ٨٩، ٢٣٠

دالفويرستين ٦٧

الدرن (السل)

الأهداف البكتيرية في ٢٥٨-٢٥٩

ريفاميسينات ٩١-٩٣

دنا، تكرار وترميم، في مثبطات الـ ٧٥-٨١، ٢٧٠-٢٧٦

التركيب ٩١-٩٢، ٢٣٣

للنمرن (السل) ٩١-٩٢

ز

الزاففة الزنجارية

البناء الحيوي للمضادات الحيوية في، (إستعمار

النصاب في ١٨٢-١٨٤

المقاومة في ١٠٩-١١١

أمينوغليكوسيدات ١٢٩-١٣٠

مضادات بيتالكتام الحيوية ١١٩

كارباينيمات ١٤٧

مضخات التدفق في ١٤٣-١٤٤، ٢٨٨-٢٨٩

أنظمة الشقين التنظيمية ٢٨٣-٢٨٤

الزراعة، استعمال المضاد الحيوي في، تطور المقاومة في

٣١٤-٣١٦

زنك هيدرولازات (بيتالكتامازات-المعدنة الحالة

للزنك) ١١٩، ١٢٣-١٢٤

زوج البروتين BmCD، كمضخة تدفق ١٤١

س

سالمونيلا

إفراز البروتين من ٢٨٨

المقاومة في، مكنة إفراز البروتين في ١٥٠-١٥١

سالمونيلا إنتريكا ضرب تيفيمورم

DT104، المقاومة المتعددة-الدواء في ٣١١

أنظمة الشقين التنظيمية ٢٨٣-٢٨٤

سيروفلوكساسين

دنا توبوآيزوميرازات، تأثيرات الكوينولونات على ٧٥

-٨٠، ٢٧٠-٢٧٦

دنا غيرازات

كأهداف مضاد حيوي ٢٧٠-٢٧٦

تأثيرات الكوينولونات على ٧٥-٨١

الدهن A و البناء الحيوي، في البكتيريا السالبة- لغرام

٢٨١

دوكسوروبيسين

البناء الحيوي ١٩٦، ١٩٨-١٩٩

التركيب ١٩٤

دوكسيسيكليين، التأثيرات على البناء الحيوي للبروتين ٦٩

دونوروبيسين، البناء الحيوي ١٧٥، ١٩٤-١٩٩

ديوكسي إريثرونوليد B في البناء الحيوي لكيتيد ١٩٩،

٢٩٥

ديوكسي إريثرونوليد B سينثازات، في البناء الحيوي

لكيتيد ١٩٩-٢٠٤

ر

راسيماز، في تجميع بيتيدوغليكان ٣٢-٣٣

راموبلاتين

البناء الحيوي، ٢٣٠-٢٣١

التأثيرات على البناء الحيوي لجدار الخلية ٣٣-٣٧

التركيب ٣٨، ٢٣٠

رنا، البروتين التفاعل مع، كأهداف مضادات حيوية ٢٧٤

ريوسومات، في بناء البروتين البكتيري ٥٥-٦١،

٢٦٣-٢٦٦

ريفامبين

سيرولنين، تأثيرات البناء الحيوي للحمض الدهني ٢٧٦  
 سيفتازديم، التركيب ١٢٠  
 سيفوتاكسين، التركيب ١٢٠  
 سيكلوثيالايدن، في تثبيط دنا غيراز ٢٧٢  
 سينيرسيد، آلية العمل ٦٦-٦٧

## ش

شودوميسين، البناء الحيوي ١٧٥-١٧٦  
 الشيفيلة الزحارية، المقاومة في  
 مكنة إفراز البروتين في ١٤٩-١٥٠

## ط

طبقة الببتيدوغليكان، جدار الخلية البكتيري  
 كهدف للمضاد الحيوي ٢٦٠  
 تأثيرات بيتا-لاكتام على ٣٩-٤٩  
 إنهاء (تكملة) الـ ٣٦-٣٨  
 التجميع الإنزيمي ٢٧-٣٤، ٣٦-٣٨  
 تأثيرات غليكوبيتيد على ٤٩-٥١  
 في البكتيريا السالبة-لغرام مقابل البكتيريا  
 الموجبة-لغرام ٢٣-٢٦  
 البروتينات المرتبطة بـ ٢٦  
 إعادة البرمجة ١٥٩-١٦٦  
 طبقة ميورين، أنظر طبقة الببتيدوغليكان  
 طرق لإختبار الحساسية ١١٠-١١٢

## ع

العائلة الصغيرة المنظمة لتعدد -المقاومة، لمضخات  
 التدفق، الخصائص ١٣٥-١٤٠

في تثبيط دنا غيراز ٧٥  
 التركيب ١٢، ٧٦  
 سيكتينوميسين التركيب ٦٢  
 سترتوجرامينات ٦٦-٦٧  
 البناء الحيوي ١٧٥-١٧٦  
 المقاومة ١٣١  
 سترتوميسين

البناء الحيوي ٢٣٧-٢٣٩  
 التأثيرات على البناء الحيوي للبروتين ٢٣٧  
 التركيب ٦٢، ٢٣٨

سكرتين، في المقاومة ١٥١  
 سليكتام ١٢١-١٢٣  
 سلفاميثوكسازول، التركيب ١٢  
 سلفاميثوكسازول-ترإيمثوبريم

التأثيرات على أيض حمض الفوليك ٨٤-٨٧  
 المقاومة ٣١٠

سم CcdB، في مشيط دنا غيراز ٢٧٣  
 سم الكوليرا، الإفراز ١٥٠  
 سم شيفيا، الإفراز ١٥٠  
 سموم، الإفراز ١٥٠-١٥١

سورتاز، كهدف مضاد حيوي ٢٥٣-٢٥٤، ٢٥٦-٢٥٧  
 سورفاكتين، البناء الحيوي ٢٣٠-٢٣١  
 سيتافلوكساسين، في تثبيط دنا غيراز ٢٧٠  
 سيريشيا (المنشارية) مارسيسينز، المقاومة في، مضادات  
 بيتا-لاكتام الحيوية ١١٩

سميرين هيدرولاز، الموقع -النشط، في تدمير مضاد  
 بيتا-لاكتام الحيوي ١١٥-١١٩

في البناء الحيوي لجليكوبيتيد ٢٢٩  
 في البناء الحيوي لكتيد ٢٠٤-٢٠٧  
**ف**  
 فالينميولين، التأثيرات على البناء الحيوي للبروتين ٢٦٣  
 فانكوميسين  
 النظيرات، النشاط الميكروبي المعوي ٢٦٢  
 البكتيريا المنتجة، الحماية الذاتية ضد ١٠٦-١٠٧  
 البناء الحيوي ٢١٤-٢٢١، ٢٢٧، ٢٢٩  
 التأثيرات على البناء الحيوي لجدار الخلية ٤٩-٥١  
 جينات، إعادة البرمجة الإدماجية ٣٠٣  
 المقاومة لـ  
 التطور ٩٧-٩٨  
 الميكورات المعوية ١٥٩-١٦٦، ٢٨٢  
 إعادة برمجة نهايات بيتيلوغليكان في ١٥٩-١٦٦  
 المكونة العنقودية الذهبية ١١٠، ٢٥٣، ٣٠٨  
 ٣١٠  
 التركيب ١٢، ٥٠، ١٠٧، ١٦٨، ٢١٠  
 فلوروكونولونات  
 لأعلاف الحيوانات، تطور المقاومة و ٣١٢  
 آلية العمل، تثبيط دنا غيراز ٧٥-٨١  
 فوسفونيتيثيل ترانسفيراز ١٩٠-١٩١  
 في بناء كيتيد ٢١١-٢١٣  
 في البناء الحيوي للبيتيد غير الريبوسومي،  
 فوسفوريليشن، في تعطيل أمينوغليكوسيد  
 ١٢٩-١٣٢

العائلة الفرعية الرئيسية المساعدة، من مضخات التدفق  
 الخصائص ١٣٥-١٣٨، ١٣٩-١٤٠  
 الوظيفة ١٤٣-١٤٤  
 ATP - عائلة الكاسيت الرابطة، لمضخات التدفق،  
 الخصائص ١٣٦-١٣٧، ١٣٩-١٤٢  
 المداوى المستشفوية، تطور المقاومة في ٩٧-١٠١،  
 ٣١٤-٣١٦  
 العصوانية البشة، بيتالاكتاماز ١٢٣-١٢٤  
 العصبية الرقيقة  
 المقاومة في، مضخات التدفق في ١٤٥-١٤٨  
 النظام التنظيمي ذا-الشقين ٢٨٤  
 علف (غذاء) الحيوانات، استعمال المضاد الحيوي في،  
 تطور المقاومة و ٣١٢-٣١٤  
 عوامل الفوعة  
 استئصال النصاب، الشيط ٢٨٥-٢٨٧  
 التنظيم ١٨٢-١٨٣

## غ

غلوتاثيون-S- ترانسفيراز، في تعطيل نشاط فوسفوميسين  
 ١٣٣-١٣٢  
 غلوتامات، في البناء الحيوي لجدار الخلية ٣٣-٣٤  
 4٧934A (جليكوبيتيد)، التركيب ١٠٧  
 جليكوبيتيدات  
 البكتيريا المنتجة، الحماية الذاتية ضد ١٠٦-١٠٧  
 التأثيرات على البناء الحيوي لجدار الخلية ٤٩-٥١  
 التراكياب ٥٠، ١٠٧  
 جليكوزيل ترانسفيرازات

فوسفوميسين	كاناميسين
البناء الحيوي ٢٣٥-٢٣٧	البناء الحيوي ٢٣٧-٢٤٠
المقاومة، الإنزيمات المسببة ١٣٢-١٣٣، ٢٣٦	التركيب ٦٢، ٢٣٨
التركيب ٢٣٥	كلاريثروميسين
فوسفونوبروفيت ميوتاز، في البناء الحيوي لفوسفوميسين	دواعي الاستعمال ٦٣-٦٤
٢٣٧-٢٣٥	آلية العمل ٦٦
فيرجينياميسينات ٦٦-٦٧	المقاومة ١٥٨-١٥٩
البناء الحيوي ١٧٥-١٧٦، ١٧٩	التركيب ٦٢
المقاومة ١٣١	كلافولينيت
التراكيب ١٧٥	البناء الحيوي ٢٢٢-٢٢٦
	آلية العمل ١٢١-١٢٣
	التركيب ١٢٣، ٤٠
قوة البروتين المحركة، في مضخات التدفق ١٣٥-١٣٩	الكليسيلا الرئوية، المقاومة في، مضادات بيتالاکتام
كاربابينيمات	الحوية ١١٩
مقاومة بيتالاکتاماز في ١٢٠	كلورامفينيكول
البناء الحيوي ٢٢٢-٢٢٦	البناء الحيوي ٢٤١-٢٤٤
التأثيرات على البناء الحيوي لجدار الخلية ٣٩-	آلية العمل ٦٦
٤١، ٤٨-٤٩	التركيب ٢٤٤
للمكورة العنقودية الذهبية المقاومة للمثسليين	كلورتتراسيكلين
١٥٥-١٥٦	البناء الحيوي ١٩٤-١٩٩
المقاومة لـ	التركيب ١٩٤
بيتالاکتامازات في، انظر بيتالاکتامازات	كلوروليموميسين
مضخات التدفق في ١٤٧	البناء الحيوي ٢١٦-٢١٩
الزائفة الزنجارية ١٤٧	التركيب ١٠٧، ٢٦٢
تراكيب الـ ٤٠، ١٢٠	كلورويوسين
ك	البناء الحيوي لـ ٢٤١-٢٤٤
كاربوميسين، آثار البناء الحيوي للبروتين ٢٦٣	في تثبيط دنا غيراز ٢٧١

- التركيب ٢٤٤، ٢٧١  
كلينا فلو كساسين، في تثبيط دنا غيراز ٢٧٠  
كومارينات  
البكتيريا المنتجة، الحماية الذاتية ضد ١٠٦  
البناء الحيوي ٢٤١-٢٤٤  
كمثبطات تكرار وترميم دنا ٧٥-٧٧، ٢٧١  
كومريسين  
البناء الحيوي ٢٤١-٢٤٤  
في مثبطات دنا غيراز ٧٥، ٢٧١  
التركيب ٧٦، ٢٤٢، ٢٧١  
بروتينات القطع، المتسلسلة كوليكلور، في تنظيم  
البناء الحيوي للمضاد الحيوي ١٧٣-١٧٤  
كوينوريسين ٦٦-٦٧  
كوينولونات  
لأعلاف الحيوانات، تطور المقاومة ٣١٢-٣١٣  
آلية العمل، تثبيط دنا غيراز ٧٥-٨١، ٢٧٠-٢٧٤  
ABT-773 (كيتوليد)، التركيب ١٥٩  
كيتيدات / كيتوليدات بولي كيتيدات، ١٥٩ وانظر  
كذلك المضادات الحيوية المحددة، مثال، تراسيكلين  
(تراسيكلينات)  
البناء الحيوي، انظر بولي كيتيد سينثازات  
كيفالوسبورينات  
فرط النمو البكتيري بسبب ٣١٤-٣١٥  
البناء الحيوي لـ ٢٢٢-٢٢٦  
تأثيرات البناء الحيوي لجدار الخلية ٣٩-٤٥،  
٤٨-٤٧  
التركيب ١٢، ٦٢  
الأجيال ٤٧-٤٨  
المقاومة  
بيتا لكتامازات، في، انظر بيتا لكتامازات  
المكورة العقلية الرقوية ١٥٧  
تعديلات السلسلة الجانبية لـ ٤٧-٤٨  
التركييب ٤٠  
الكيمياء الإتحادية (الإنمائية)، في تطور المضادات  
الحوية الجديدة  
المكتبات ٢٩١-٢٩٨  
البيتيدات غير الريبوسومية ٢٩٩-٣٠٣  
بوليكيتيدات ٢٩٥-٣٠٣  
**ل**  
لانتبيوتكات ٩٠، ٢٤٥-٢٤٨  
ليوغليكوبيتيدات (غليكوبيتيدات الدهنية)، البناء الحيوي  
٢٣٠-٢٣٢  
البيتيدات الدهنية، البناء الحيوي ٢٣٠-٢٣٢  
D-D - ليفاز، في البناء الحيوي لجدار الخلية ٣٢-٣٣،  
١٦١-١٦٥  
TEM لكتامازات ١١٨-١١٩، ١٢٢-١٢٣  
ليفو فلو كساسين  
في تثبيط دنا غيراز ٧٥  
التركيب ٧٦  
لينكوسميد، آلية العمل ٦٥  
لينزوليد  
التأثيرات على البناء الحيوي للبروتين ٧٢، ٧٣  
التركيب ١٢، ٦٢

## م

## المتسلسلة كوليكلور

البناء الحيوي في ١٧٣، ١٦٨-١٧٤، ١٨٠

المجين ١٧١

## المتسلسلة لافينديولي

البناء الحيوي للمضاد الحيوي في ١٧٥-١٧٦

المنتجة لميتوميسين، الحماية الذاتية ضد ١٠٨

المتسلسلة ويدمورينسيس، البناء الحيوي لفوسفوميسين

في ٢٣٥-٢٣٧

المتفطرة السلية

أسيل ترانسفيراز، كهلف مضاد حيوي ٢٥٨-٢٥٩

أيزوستريت لياز، كهلف مضاد حيوي ٢٨٠-٢٨١

ريفاميسينات ٩١-٩٣

مُثَسِّلِينَ، المقاومة

تَطَوُّر الـ ٩٨-٩٩

المكورة العنقودية الذهبية ١١٠، ١٢٦-١٢٨،

١٥٣-١٥٦، ٢٥٣-٢٥٤، ٣٠٨-٣١٠

تعديل الهدف في ١٥٣-١٥٦

مثنوين أمينوبيدياز، كهلف مضاد حيوي ٢٦٨-٢٦٩

مركبات الأمونيوم (النشادر) الرباعية، كمضخات

تدفق ١٣٧

مسار ميغالونيت، للبناء الحيوي لأيزوبرينويد ٢٧٧-٢٧٩

المضاد الحيوي (المضادات الحيوية)

الاستعمال الملائم ٣١٧-٣١٩

الحماية الذاتية للبكتيريا ضد، انظر البكتيريا،

الحماية الذاتية في التصنيف ٥، ١٣-١٩

تعريف الـ ٣

ماكروليدات، انظر كذلك المضادات الحيوية المحددة

ومثال إريثروميسين

البكتيريا المنتجة، الحماية الذاتية ضد ١٠٣-١٠٦

المقاومة ١٥٨-١٥٩

المتسلسلات، البناء الحيوي للمضاد الحيوي في

أمينو كومارينات، الحماية الذاتية ضد ١٠٦

قائمة الـ ١٧٠-١٧١

التنظيم

بيوتانيوليدات في ١٧٥-١٧٧

الدمج ١٧٨-١٨١

ذا-الشقين ١٧٣-١٧٤

المتسلسلة فينولي، البناء الحيوي لكلورامفينيكول في

٥٤٣

المتسلسلة أنتيبايوتيكس، إنتاج ماكروليد بواسطة،

الحماية الذاتية ضد ١٠٣-١٠٦

المتسلسلة بيوميتيس، البناء الحيوي للمضاد الحيوي في

١٧٥

المتسلسلة تيوكانسيس، المنتجة لفانكوميسين، الحماية

الذاتية ضد ١٠٦

المتسلسلة فراديا، البناء الحيوي للمضاد الحيوي في

١٨٠

المتسلسلة فيرجيني، البناء الحيوي للمضاد الحيوي

١٧٥-١٧٦

المتسلسلة كالفولجيريس، البروتين المثبط لبيتالاكتاماز

المنتج بواسطة ١٢١-١٢٢



- التدفق من البكتيريا، انظر مضخات التدفق  
خط الإنتقاء -الأول ١٧-١٩  
الجليد، انظر المضادات الحيوية الجديدة،  
انظر مبيعات المقاومة لـ ١٣  
تراكيب الـ ١٢  
الأهداف لـ انظر الأهداف البكتيرية  
المضادات الحيوية الجديدة  
المكتبات  
المنتج الطبيعي ٢٩٤-٢٩٧  
الكيميائية الإصطناعية ٢٩١-٢٩٤  
الحاجة لـ ٨-١٠  
الأهداف ٢٤٩-٢٨٩  
البناء الحيوي لجدار الخلية ٢٥٦-٢٦٢  
التعريف الـ ٢٤٩-٢٥٦  
تكرار وترميم دنا ٢٧٠-٢٧٤  
مضخات التدفق ٢٨٨-٢٨٩  
البناء الحيوي للحمض الدهني ٢٧٥-٢٧٦  
أيزوستريت لياز ٢٨٠-٢٨١  
البناء الحيوي لأيزوبرينويد ٢٧٧-٢٨٠  
البناء الحيوي للدهن ٢٨١  
البناء الحيوي للبروتين ٢٦٣-٢٦٩  
البناء الحيوي لإستشعار النصاب ٢٨٥-٢٨٧  
أنظمة الشقين التنظيمية ٢٨٢-٢٨٤  
وقت التقديم (الإدخال) ٢٤٩  
المضادات الحيوية الجديدة، انظر المضادات الحيوية الجديدة  
المضادات ببتيد الحيوية  
آلية العمل ٨٧-٩١  
غير الريبوسومية  
البناء الحيوي ٢٠٩-٢٣٣  
الجليدة، التطور ٢٩٤-٣٠٣  
مضادات بيتا لكتام الحيوية، انظر كذلك المضادات الحيوية المحددة  
التأثيرات البكتيرية لـ ٢  
التأثيرات على البناء الحيوي لجدار الخلية ٣٩-٤٨  
المقاومة، انظر كذلك بيتا لكتامازات ١٥٧  
مضخات التدفق، في المقاومة ١٣٥-١٥١  
كأهداف مضاد حيوي ٢٨٨-٢٨٩  
الأصناف ١٣٥-١٤٢  
في الإشركية القولونية ١٤٨-١٤٩  
الوظيفة ١٤٣-١٤٤  
إفراز البروتين في ١٤٩-١٥١  
التنظيم ١٤٥-١٤٨  
مضخة MalK، في تدفق المضاد الحيوي ١٣٩  
المطنية العسيرة، فرط النمو ٣١٤-٣١٥  
المعالجة التوليفية، للتحكم بالعدوى ٣١٦  
المقاومة، انظر كذلك البكتيريا والمضادات الحيوية المحددة  
استعمال المضادات الحيوية في الزراعة و ٣١٢-٣١٤  
في متجحي المضادات الحيوية ١٠١-١٠٣  
لأمينوكومانينات ١٠٦  
ليكروليدات ١٠٣-١٠٦

- ليتوميسين ١٠٨-١٠٩  
لفانكوميسين ١٠٦-١٠٧  
لتعديل الهدف البكتيري في ١٥٣-١٦٦  
التحكم في ٣١٥-٣١٧  
تطور الـ ٦-٧، ٩٧-١٠٠  
مضخات التدفق في ١٣٥-١٥١  
الإنزيمات في  
المعدلة-الأمينوغليكوسيد ١٢٩-١٣١  
بيتا لكتامازات، انظر بيتا لكتامازات  
تعطيل نشاط فوسفوميسين في ١٣٢-١٣٣  
الاستعمال غير المرشد الذي يسبب ٣٠٦-٣٠٧  
قائمة المضادات الحيوية ١٠١  
آليات العمل ٢٠  
متعدد-الدواء ٣٠٧-٣١٢  
الاحتياج من المضادات الحيوية و ٨-١٠  
فاشيات ٩٧  
آلية إفراز البروتين في ١٤٩-١٥١، ٢٨٨  
أمثلة rRNA في ١٥٨-١٥٩  
المقاومة / عمل العقيدات / انقسام الخلية  
عائلة، لمضخات التدفق  
الخصائص ١٣٦-١٣٩، ١٤٠  
الوظيفة ١٤٣-١٤٤  
المقاومة للمتعددة-الدواء ٣٠٧-٣١٢  
مكتبات، للمضادات الحيوية الجديدة،  
المنتجات الطبيعية ٢٩٤-٢٩٨  
المواد الكيميائية الإصطناعية ٢٩١-٢٩٤
- المكورات العنقودية المعوية، المقاومة في إعادة برمجة  
نهايات الببتيدوغليكسان في ١٥٩-١٦٦  
فانكوميسين ١٥٩-٢٨٢، ٢٦٦  
المكورة العنقودية الرئوية  
أهداف المضاد الحيوي في ٢٥٤  
المقاومة في ٣٠٦  
مضادات بيتا لكتام -الحيوية ١٥٧  
بنسيلينات ١٢٩  
تعديل الهدف في ١٥٧  
نظام الشقين التنظيمي ٢٨٢  
المكورة العنقودية القيحية، المقاومة ٣١١  
المكورة العنقودية الذهبية  
بروتين Agr ٢٨٥-٢٨٧  
أهداف المضاد الحيوي في ٢٥٢-٢٥٦  
المقاومة في ١٢٦-١٢٨، ٣٠٦  
مشيلين ٩٨-٩٩، ١٥٠، ١١٠، ١٢٩، ١٥٣-  
١٥٦، ٢٥٣-٢٥٤، ٣٠٦  
ماكئة إفراز البروتين في ١٤٩  
تعديل الهدف في ١٥٧  
فانكوميسين ١١٠، ٣٠٩  
سورتاز ل، كهدف مضاد حيوي ٢٥٦-٢٥٧  
نظام الشقين التنظيمي ٢٨٢-٢٨٤  
مواد إنتحارية، للبيتا لكتامازات ١٢١-١٢٣  
مولينوميسين  
التأثيرات على البناء الحيوي لجدار الخلية ٥٢-٥٣  
آلية العمل ٢٦١

- مونواكسيجينازات، في البناء الحيوي لكيتيد ٢٠٤-٢٠٧  
مونوباكتامات  
التأثيرات على البناء الحيوي لجلدار الخلية ٤٨-٤٩  
التركييب ٤٠  
5- ميتوكسيهيدروكاربين D وكمشط لمضخة التدفق ٢٨٩  
ميتوميسين  
البكتيريا المنتجة، الحماية الذاتية ضد و ١٠٨-١٠٩  
التركييب ١٠٩  
ميثيلنيميسين، البناء الحيوي ١٧٣-١٧٤  
ميرساسيدين  
البناء الحيوي ٢٤٥-٢٤٨  
التأثيرات على البناء الحيوي لجلدار الخلية ٣٧  
آلية العمل ٩١  
التركييب ٣٨  
ميرولتينيم  
التأثيرات على البناء الحيوي لجلدار الخلية ٤٨-٤٩  
المقاومة، مضخات التدفق في ١٤٧  
التركييب ١٢٠  
ميكروسين B17  
البناء الحيوي ٢٤٥-٢٤٨  
في تثبيط دنا غيراز ٢٧٣  
التركييب ٢٤٨  
ميكوسوبتيلين  
البناء الحيوي ٢٣٠-٢٣٢  
التركييب ٢٣٠  
ميكوليل ترانسفيرازات، كأهداف مضاد حيوي ٢٨٠-



- نافثيل دايبتييد، كمشط مضخة التدفق ٢٨٩  
نشوء (تطوُّر)، المقاومة ٦-٧، ٣٠٦-٣٠٧  
A1-2 نصاب الحفَازات الذاتية، كأهداف مضاد حيوي ٢٩٠  
نقل الببتيد، في البناء الحيوي لجلدار الخلية ٣٩-٤٥،  
٤٩-٥١  
نوسيهيتيد  
التأثيرات على البناء الحيوي للبروتين ٢٦٦  
التركييب ٢٦٧  
نوفويوسين  
البناء الحيوي ٢٤١-٢٤٤  
في تثبيط دنا غيراز ٧٥، ٢٧١  
التركييب ٧٦، ٢٤٢، ٢٧١  
نيامين، التركييب ٢٦٨  
نيسين، البناء الحيوي ٢٤٥-٢٤٨  
نيومايسينات  
البناء الحيوي ٢٣٧-٢٤٠  
التركييب ٢٦٨

ي

هـ

هيجروميسين B، التأثيرات على الحيوي للبروتين ٧١- يوسينيا

٧٢ إفراز البروتين من ٢٨٨

وسيطات الدهن I و II، في البناء الحيوي لجدار الخلية، المقاومة في، آلية إفراز البروتين في ١٥١

٣٤-٣٥، ٢٦١ ٧٠ DMG-DMDOT

GE2270A

التأثيرات على البناء الحيوي للبروتين ٢٦٦

التركيب ٢٦٧







## نبذة عن الكتاب

يهتم الكتاب ( المضادات الحيوية، طرق العمل، المصادر والمقاومة) بالأصناف الرئيسة الحالية من المضادات الحيوية وفهم طريقة عملها بواسطة تحليل كيفية التدخل الانتقائي لهذه الجزيئات الصغيرة في عملية واحدة أو أكثر من العملية المركزية لبقاء الخلايا البكتيرية، كما أن غالبية التركيز في هذا الكتاب كانت على المنتجات الطبيعية ذات النشاط المضاد الحيوي التي تنتجها المكروبات إضافة إلى المواد الكيميائية المصنعة.

وقد تم تقسيم الكتاب إلى خمسة أبواب :

\* الباب الأول: تقديم المفاهيم الأولية للمضادات الحيوية.

\* الباب الثاني: الأهداف المثبتة والأصناف الرئيسة للمضادات الحيوية وطرق عملها.

\* الباب الثالث: ركز على الآليات الرئيسة لمقاومة المضادات الحيوية في البكتيريا المسببة للأمراض وتشمل المناعة الطبيعية مقابل المناعة المكتسبة والتدمير الإنزيمي وتعديل المضاد الحيوي بواسطة البكتيريا المقاومة، ومضخات الدفق للخارج، واستبدال أو تعديل هدف المضاد الحيوي.

\* الباب الرابع: اختص بالمنطق الجزيئي للتكوين الحيوي لأنواع المضادات الحيوية المختلفة.

\* الباب الخامس: اهتم بالإستراتيجيات الجديدة لإيجاد مصادر مضادات حيوية جديدة إضافة إلى الحيوية الجديدة المرجح بروزها إلى الوجود عن طريق الجهود الكيميائية الاصطناعية و الاندماجية .

